

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

UNTERSUCHUNGEN ÜBER INTERSTITIELLE CHIASMEN
BEI OENOTHERA*.

Von

ANITA HOFFMANN.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. Oktober 1953.)

Inhalt.

	Seite
A. Einleitung	277
B. Material und Methode	279
C. Ergebnisse	280
I. Gestalt und Verhalten der interstitiellen Chiasmen	280
II. Die Frequenz der interstitiellen und der Endchiasmen bei verschiedenen Oenotherenarten und -bastarden	282
III. Der Einfluß der Kreuzkonjugation auf die Chiasmenfrequenz	287
IV. Die Chiasmenfrequenz bei verschiedenen Außenbedingungen	289
D. Diskussion der Ergebnisse	293
I. Auftreten und Verbreitung der interstitiellen Chiasmen bei <i>Oenothera</i>	293
II. Experimentelle Untersuchungen über die Chiasmenfrequenz	295
III. Verklebungen und interstitielle Chiasmen	297
Zusammenfassung	298
Literaturverzeichnis	298

A. Einleitung.

Bei dem Artbildungsphänomen in der Gattung *Oenothera* haben reziproke Translokationen nicht-homologer Chromosomen eine entscheidende Rolle gespielt. Dementsprechend finden sich in der Meiosis höchst unterschiedliche, aber für die einzelnen Arten konstante Chromosomenkonfigurationen; angefangen von Formen mit 7 Bivalenten kann man alle Verkettungsweisen bis zu 14 Chromosomen in einem Ring konstatieren. Diese Verkettungen sind darauf zurückzuführen, daß von den daran beteiligten Chromosomen die Enden innerhalb der beiden Genome verschiedenartig verteilt sind und somit ein Chromosom mit den Enden zweier anderer konjugiert. Abgesehen von dieser Eigentümlichkeit besitzt *Oenothera* durchweg Chromosomen mit einem heterochromatischen Mittelstück, in welchem die Insertionsstelle liegt, woran sich euchro-

* Dissertation der Naturwissenschaftlich-Mathematischen Fakultät der Universität Freiburg i. Br. Herrn Prof. Dr. F. OEHLKERS danke ich für die Stellung der Aufgabe und seine Unterstützung während der Arbeit, Fr. Dr. G. LINNERT für ihre Einführung in zytologisches Arbeiten, sowie Herrn Dr. P. IHM für Rat und Hilfe bei der Statistik. — Als Arbeitager stand mir eines der von der Forschungsgemeinschaft gestellten Mikroskope zur Verfügung.

matische Endsegmente anschließen. Es darf heute als bekannt vorausgesetzt werden, daß bei solchen Chromosomentypen die Chiasmenbildung des Pachytäns im Heterochromatin unterbleibt, und daß weiterhin — möglicherweise infolge der früheren Trennung der heterochromatischen Stücke — die Chiasmen in den euchromatischen Enden gewöhnlich bis zu einem Endchiasma terminalisieren, unabhängig davon, wieviele in dem euchromatischen Teil angelegt wurden. Anlage und Terminalisation der Chiasmen ist davon unabhängig, ob die Chromosomen Kreuzkonjugationen in der Meiosis durchführen, also mehr oder weniger lange Verkettenungen bilden, oder ob sie sich zu normalen Bivalenten zusammenschließen.

Auf der Basis dieser Vorstellungen ist in Freiburg in den Arbeiten zur „Physiologie der Meiosis“ (OEHLKERS 1935, 1936; STRAUB 1936, 1937; KISCH 1937; ZÜRN 1937, 1939; ERNST 1938; WIEBALCK 1940) die Abhängigkeit der Endchiasmen von äußeren und inneren Bedingungen sowie von Chemikalien (OEHLKERS 1934; LINNERT 1953) untersucht worden. In den Arbeiten über „Meiosis und crossing-over“ (OEHLKERS 1938, 1940; ERNST 1938, 1939; HARTE 1942, 1953; LAURITZEN 1953) wurde die zytogenetische Frage nach dem Zusammenhang zwischen Chiasmenbildung und crossing-over verfolgt. Endlich sind in den Arbeiten zur Auslösung von Chromosomenmutationen die Bedingungen für das Auftreten neuer Translokationen aufgewiesen worden (OEHLKERS 1943, 1946, 1953; OEHLKERS und LINNERT 1949, 1951; OEHLKERS LINNERT und STANGE 1951; OEHLKERS und MARQUARDT 1950; MARQUARDT 1947, 1951, 1952; LINNERT 1950; STANGE 1950). Nicht oder nur nebensächlich erörtert wurde bisher Auftreten und Verhalten der interstitiellen Chiasmen, derjenigen nämlich, die bis in die Anaphase hinein als sog. „Querarme“ erhalten bleiben.

Kurz sei darauf hingewiesen, daß diese interstitiellen Chiasmen bei *Oenothera* 1914 zuerst von GATES aufgefunden, von HÅKANSSON (1930) bei *Oenothera* bestätigt und für *Godetia* (1942) neu bearbeitet und von DARLINGTON (1931, 1936) für seine Theorie des interstitiellen und differentiellen Segmentes verwendet wurden, von MARQUARDT (1941) ausführlich diskutiert und erläutert. 1948 wurde das Auftreten dieser Phänomene von RENNER (1948) in einen zytogenetischen Zusammenhang gestellt; er geht dabei von der Beobachtung aus, daß das crossing-over, zumindest in den alten spontanen Heterozygoten, erstaunlich selten ist und daher nur durch ein ebenfalls selten auftretendes zytologisches Ereignis erklärt werden könnte. Dafür hat er in einem bestimmten Falle ein selten auftretendes interstitielles Chiasma wahrscheinlich machen können.

Im Hinblick auf alle eben erörterten Probleme, weiterhin auch noch wegen des Zusammenhangs der interstitiellen mit den Endchiasmen

bei der Chromosomenkonjugation erschien es uns notwendig, beide Phänomene zugleich in aller Breite und an den verschiedensten Oenotherentypen zu untersuchen. Das sei in der nachfolgenden Arbeit ausgeführt.

B. Material und Methode.

Als Material zur Untersuchung des Einflusses konstitutioneller Verschiedenheiten auf die Bildung interstitieller Chiasmen wurden verschiedene spontane Formen und frisch hergestellte Bastarde von *Oenothera* verwendet. Es handelt sich um:

Oe. Hookeri, Freiburg,
Oe. franciscana DE VRIES,
Oe. grandiflora CLELAND, San Miguel,
Oe. Lamarckiana DE VRIES,
Oe. (Lamarckiana × grandiflora),
Oe. (Lamarckiana × suaveolens sulfurea),
Oe. (suaveolens sulfurea × Lamarckiana),
Oe. (franciscana × Lamarckiana),
Oe. (Hookeri × Lamarckiana),
Oe. (Hookeri × suaveolens sulfurea),
Oe. (suaveolens sulfurea × Hookeri).

Im Jahre 1950 wurden Pflanzen aus Kreuzungen, die Herr Professor OEHLKERS mir freundlicherweise zur Verfügung stellte, in den späteren Jahren eigene Kreuzungen untersucht. Die jeweilig bearbeitete Komplexkombination, die Chromosomenkonfiguration und das Untersuchungsjahr sind in der Tabelle 2 (S. 284) angegeben.

Um den Einfluß äußerer Bedingungen auf den Bindungswert und die interstitiellen Chiasmen festzustellen, wurde in der Hauptachse *Oe. Hookeri* Frbg. verwendet; es wurden Kälteschocks appliziert und der Einfluß verschiedener Salzlösungen in Wasserkulturen untersucht. Für jeden Versuch wurden früh morgens auf dem Freiland 40 Hauptprosse abgeschnitten, unter Wasser auf eine Länge von 40 cm gekürzt, und zu 7–8 in 500 cm³ Erlenmeyer-Weithalskolben mit den entsprechenden Salzlösungen oder Aqua destillata gesteckt. Es wurden 1/100 molare Lösungen der folgenden Salze verwendet:

K_2SO_4 , pro analysi, Merck-Darmstadt,
KSCN, pro analysi, Merck,
 $AlCl_3 + 6 H_2O$, puriss. cryst., Merck.

Die Pflanzen blieben dann 5 Tage lang bei 10° C in dem von OEHLKERS (1935) beschriebenen Kältethermostaten bei konstanter Beleuchtung und halbwegs konstanter Luftfeuchtigkeit. Zu gleicher Zeit wurden 5 Tage lang Kontrollpflanzen in Aqua dest. in den gleichen Raum gestellt. Bei den Temperaturversuchen standen die Pflanzen 9 Std in der 10°-Kältekammer und wurden dann für 3 Std in einem Kulturräum mit 23° ans Fenster gestellt. Dieser Wechsel wurde im ersten Versuch 2 Tage, im zweiten Versuch 4 Tage lang wiederholt. Von Freiland- und Versuchspflanzen wurden die Knospen morgens in der Zeit von 8–11 Uhr in Carnoy-Gemisch (2 Teile Alkohol : 1 Teil Eisessig) fixiert. Die weitere Verarbeitung erfolgte nach der Essig-Karmin-Quetschmethode.

Im Jahre 1950 wurden für jeden Versuch 200 Zellen ausgewertet; es ergab sich jedoch bei einer vorläufigen Zusammenstellung der Ergebnisse, daß bei der geringen Zahl von interstitiellen Chiasmen zur statistischen Sicherung die Anzahl auf 400 bzw. 200 Zellen erhöht werden mußte. Außerdem wurde, da zwischen den Pflanzen

zuweilen gesicherte Unterschiede bestehen, die Individuenzahl möglichst groß gehalten und von jeder Pflanze gleichviele Zellen ausgewertet; 1951 von 10 Pflanzen je 40 Zellen, 1952 von 14 Pflanzen je 30 Zellen. Die Sicherung und Darstellung der Ergebnisse erfolgte nach einer neuen, von IHM (1954) ausgearbeiteten Methode. Festgestellt wurde von jedem Material 1. die Anzahl der interstitiellen Chiasmen, 2. die Anzahl der geöffneten Endbindungen. Beide Werte werden in ein Koordinatensystem eingetragen, in welchem die y -Achse das interstitielle Chiasma und die x -Achse den Endbindungsauftaupunkt anzeigen. Um den Schnittpunkt werden die Vertrauensgrenzen als Ellipsen konstruiert. Die Halbachsen dieser Ellipsen ergeben sich aus einer Berechnung der Werte in einer Transformation der Gleichung von HOTELLING S-T-Verteilung. Die Werte für $P=0,01$ wurden in den Tabellen von FISHER und YATES entnommen. Wenn sich die Ellipsen nicht überschneiden, so bestehen für das untersuchte Wertepaar zwischen den Versuchen gesicherte Unterschiede. Die Verteilung des Bindungsauftaups und der interstitiellen Chiasmen auf die Konfigurationen wurde mit Hilfe der χ^2 -Methode gesichert.

Die Anzahl der Endchiasmen je Zelle wird gewöhnlich nicht angegeben, sondern es wird, wie es bisher in den Arbeiten zur „Physiologie der Meiosis“ geschah, der Endbindungsauftaupunkt je Zelle berechnet. Dadurch werden die Zahlen kleiner und sind besser für die statistische Bearbeitung geeignet. Grundsätzlich ist also hohe Chiasmenfrequenz identisch mit geringem Bindungsauftaupunkt und umgekehrt.

C. Ergebnisse.

I. Gestalt und Verhalten der interstitiellen Chiasmen.

Nach der heute allgemein akzeptierten Auffassung bezeichnen die Chiasmen die Stellen des Segmentaustausches der Chromatiden, der im Pachytän bei vollständiger Paarung erfolgt ist. Sichtbar werden kann ein Chiasma erst bei Verkürzung und Auseinanderweichen der homologen Chromosomen, wobei die Stelle eines Chiasmas als Partnerwechsel der Chromatiden erscheint.

In der Gattung *Oenothera* sind diese Stadien außerordentlich schwer zugänglich — sie sind höchst fixierungslabil — und nur in seltenen Fällen liegt außerhalb des Chromosomenknäuels ein einzelnes gut übersehbares Bivalent. An derartigen Einzelbefunden wurden dieselben Wahrnehmungen gemacht, über die MARQUARDT (1937) und JAPHA (1939) berichtet haben: In den heterochromatischen Mittelstücken der *Oenothera*-Chromosomen sind die Chiasmen außerordentlich selten; wir selbst fanden überhaupt keines. In den euchromatischen Endsegmenten finden sich in allgemeinen 2—3 Chiasmen, von denen mindestens eines notorisch interstitiell sein muß. Die *Oenotheren* gehören zudem zu denjenigen Objekten, bei welchen die Chiasmen terminalisieren, d.h. soweit an den Enden der Bivalente zusammenrücken, daß in den Stadien der Diakinese bis Metaphase gewöhnlich nur eine einzige Endverbindung zu erkennen ist.

Die interstitiellen Chiasmen, die wir im folgenden bearbeiten, sind diejenigen, die auch bei erfolgender Terminalisation in den eben genannten Stadien nicht ganz bis zum Chromosomenende gerückt sind und nun entweder als kleine punktförmige Körper (Abb. 1a) oder — vergröbert — als Querarme (HÄKANSSON 1930) zu sehen sind (Abb. 1c—e). Schließlich gibt es noch interstitielle Chiasmen, bei denen die Chromatiden distal auseinanderweichen und nochmals ein Endchiasma bilden

(Abb. 1f). In solchen, zwar höchst seltenen Fällen liegt das interstitielle Chiasma sehr nahe am heterochromatischen Mittelstück.

Diese Erörterung zeigt, daß allein die späten Stadien für eine quantitative Erfassung der interstitiellen Chiasmen geeignet sind, wobei beachtet werden muß, daß es zwischen den 3 eben beschriebenen Formen gleitende Übergänge gibt. Für die quantitative Auswertung der Anzahl der interstitiellen Chiasmen ist von besonderer Bedeutung, daß deren Zahl sich im Verlaufe von der Diakinese bis zur Metaphase hin verringert. Wie interstitielle Chiasmen in der Metaphase bei schon eingetretenem Anaphasezug aussehen, zeigt Abb. 2. Wenn man nun Endbindungsausfall und Frequenz der interstitiellen Chiasmen in der Diakinese und Metaphase



Abb. 1a-f.

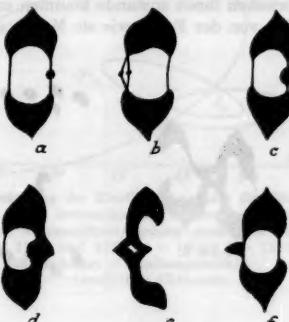


Abb. 2a-f.

Abb. 1a-f. Bivalente von *Oe. Hookeri* mit interstitiellen Chiasmen in der Diakinese.
Abb. 2a-f. Bivalente von *Oe. Hookeri* mit interstitiellen Chiasmen in der Metaphase, in der die färberischen Unterschiede zwischen Eu- und Heterochromatin nicht mehr hervortreten.

miteinander vergleicht, so zeigt sich mit Deutlichkeit, daß sowohl weniger interstitielle Chiasmen als auch Endbindungen vorhanden sind (Tabelle 1).

Der damit aufgewiesene Unterschied in den beiden Stadien bedeutet, daß das interstitielle Chiasma und die Endbindungen von der Metaphasebewegung gleichsinnig erfaßt werden. Die Terminalisation ist also in der Diakinese noch nicht abgeschlossen, wie ein Vergleich der Koeffizienten zeigt. Auch die Gestalt der

Tabelle 1. Häufigkeit des Bindungsausfalls und der interstitiellen Chiasmen in Diakinese und Metaphase.

	Form	Jahr	Stadium	Anzahl der Zellen	M. BA.	M. I. Ch.	Terminalisationskoeffizient	P-Werte
<i>Oe. Hookeri</i>	<i>h</i> Hookeri · <i>h</i> Hookeri	1951	Diakinese	400	0,19	1,07	0,92	<0,01
			Metaphase	400	0,38	0,90	0,93	
<i>Oe. (Lamarckiana ×</i> <i>velans</i> · <i>grandiflora</i>)	<i>acuens</i>	1952	Diakinese	420	0,06	1,35	0,90	<0,01
			Metaphase	461	0,19	0,92	0,93	

M. BA. = Mittelwert des Bindungsausfalls je Zelle. M. I. Ch. = Mittelwert der interstitiellen Chiasmen je Zelle.

interstitiellen Chiasmen verändert sich in der Metaphase. Die Kontraktion der Chromosomen, die erst in diesem Stadium abgeschlossen wird, erstreckt sich auch auf die interstitiellen Chiasmen und läßt sie kompakter erscheinen (Abb. 2). Während der Metaphase ist niemals ein Auseinanderweichen zwischen einem interstitiellen und einem terminalen Chiasma zu beobachten. In 1260 untersuchten Metaphasezellen trat ein einziges Mal ein Chiasma auf, wie es DARLINGTON (1931) für *Oenothera biennis* innerhalb eines Ringes beschrieb. Dieses interstitielle Chiasma war mit seinen langen distalen Armen nochmals durch terminale Chiasmen mit 2 anderen Chromosomen verbunden (Abb. 3). Eine solche Figur kann nur auf Grund einer Paarung nichthomologer Chromosomen und anschließender Chiasmenbildung zwischen ihnen zustande kommen und führt zu einer echten Chromatidtranslokation von der Form, wie sie MARQUARDT (1941, S. 283—285) abgeleitet hat.



Abb. 3.



Abb. 4.

Abb. 3. Chiasma zwischen nicht-homologen Chromosomen.

Abb. 4. Anaphasezellen der *Oe. (Lamarckiana x grandiflora) velans · acuens*.

In der Anaphase, deren Bewegung sehr schnell abläuft, trennen sich die durch interstitielle Chiasmen verbundenen Chromosomen vielfach später als die durch einfache Endbindungen verknüpften. Sie liegen, während die anderen Chromosomen schon zu den Polen gewandert sind, noch in der Äquatorialebene (DARLINGTON 1931, CATCHESIDE 1933, RENNER 1948). Im übrigen sind die Anaphasebilder in keiner Weise maßgeblich für die interstitiellen Chiasmen; man darf nicht vergessen, daß sich hier Verklebungen und nachfolgende Brückenbildung anzeigen können, so daß es tunlich ist, zum Vergleich der quantitativen Verhältnisse von Endbindungen und interstitiellen Chiasmen die mittlere Diakinese zu verwenden (Abb. 4).

II. Die Frequenz der interstitiellen Chiasmen und der Endchiasmen bei verschiedenen Oenotherenarten und Bastarden.

Die untersuchten Oenotheren sind in mannigfaltiger Hinsicht verschieden, einmal danach, ob es sich um homozygotische oder heterozygotische Komplexkombinationen handelt; in letzterer Gruppe finden sich spontane alte Heterozygoten wie die *Oe. Lamarckiana* und eine Anzahl frisch hergestellter Bastarde. In anderer Hinsicht sind die verschiedenen verwendeten Materialien durch unterschiedliche Konfigurationen ausgezeichnet.

Es werden Formen mit ausschließlich Bivalenten, wie die homozygotische *Oe. Hookeri* Freiburg, *Oe. grandiflora* San Miguel (*acuens · acuens*) und *Oe. fran-*

ciscana DE VRIES, wie auch Formen mit 5 Bivalenten und einem 4-Ring, wie er bei den Komplexkombinationen *Oe. (Hookeri × Lamarckiana)* ^h*Hookeri · velans*, *Oe. (franciscana × Lamarckiana)* ^h*franciscana · velans*, *Oe. (Hookeri × suaveolens)* ^h*Hookeri · flavens* und reziprok auftritt, bearbeitet. Höher verkettete Formen finden wir bei den Bastarden mit den Komplexen *Oe. (Lamarckiana × suaveolens)* *velans · flavens* und reziprok mit zwei 4-Ringen, bei *Oe. (Lamarckiana × grandiflora)* *velans · acuens* mit einem 6-Ring und einem 4-Ring, und *Oe. Lamarckiana (velans · gaudens)* mit einem 12-Ring und einem Bivalent. Die höchste Verkettungsform bei *Oenothera*, ein 14-Ring, wird in *Oe. (suaveolens × Hookeri)* ^h*albicans* · ^h*Hookeri* untersucht. Durch diese Materialauswahl lässt sich prüfen, wie weit die in den Komplexen gegebenen Konstitutionen einerseits und die Verkettungsweisen andererseits die interstitiellen Chiasmen beeinflussen.

Wir befassen uns zunächst mit den Ergebnissen soweit sie sich auf die konstitutiven Differenzen beziehen. Tabelle 2 enthält das Gesamtmaterial einschließlich der Aberrationen und Verklebungen. Die Resultate lassen sich am einfachsten an den graphischen Darstellungen überblicken, in welchen zugleich auch die statistische Sicherung ihrem Ausdruck findet. Es sind jeweils die Werte für den Endbindungsausfall und die interstitiellen Chiasmen in der Weise angeordnet, wie es im methodischen Teil angegeben wurde. Die Schwerpunkte der Ellipsen ergeben sich, um es zu wiederholen, aus den Koordinaten der Mittelwerte beider Größen und die Ellipsen umgrenzen den Konfidenzbereich für diese Mittelwerte. Dabei wird der Streubereich des interstitiellen Chiasmas durch die Tangenten, die senkrecht auf die *y*-Achse treffen und derjenige des Bindungsausfalls durch diejenigen, die auf die *x*-Achse gezogen werden, dargestellt. Wir haben ein Beispiel dafür in Abb. 7 für die *Oe. Hookeri* eingezeichnet.

Was die Ergebnisse für die konstitutiven Differenzen anlangt, ist zunächst zu überprüfen, ob und wie weit die Resultate, die an den einzelnen Konstitutionstypen gewonnen wurden, in den verschiedenen Jahren übereinstimmen. Dazu sind in Abb. 5 die sämtlichen Ergebnisse der *Oe. (Lamarckiana × grandiflora)* *velans · acuens* von 3 Jahren und in Abb. 6 die Resultate für *Oe. (suaveolens × Hookeri)* *flavens · ^hHookeri* von 2 Jahren eingetragen. Aus den beiden Darstellungen geht hervor,

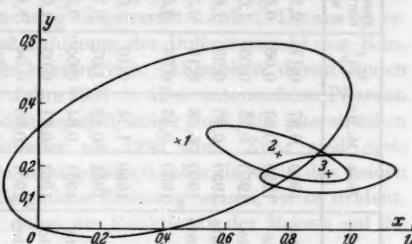


Abb. 5. Darstellung der Konfidenzbereiche für Bindungsausfall und interstitielle Chiasmen bei *Oe. (Lamarckiana × grandiflora)* *velans · acuens* in den Jahren 1950, 1951 und 1952. 1 = 1950; 2 = 1951; 3 = 1952. x-Achse = Bindungsausfall; y-Achse = interstitielle Chiasmen.

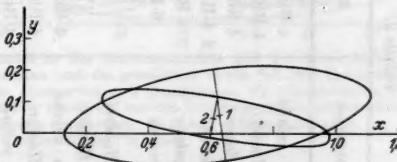


Abb. 6. Darstellung der Konfidenzbereiche des Bindungsausfalls und der interstitiellen Chiasmen bei *Oe. (suaveolens sulurea × Hookeri)* *flavens · ^hHookeri* in den Jahren 1950 und 1951. 1 = 1950; 2 = 1951. x-Achse = Bindungsausfall, y-Achse = interstitielle Chiasmen.

Tabelle 2.

Kreuzung	Komplexkombination	Konfiguration	Jahr	M. BA.	M. I. Ch.	Abera- tion %	Verla- bungen %	Anzahl der Zellen
<i>Oe. franciscana</i> × <i>Lamarkiana</i>	<i>hfranciscana</i> · <i>velans</i>	4-Ring, 5 Bivalente	1950	0,37	0,17	0,50	1,00	200
<i>Oe. suaveolens sulfurea</i> × <i>Hookeri</i>	<i>hfranciscana</i> · <i>velans</i> · <i>hHookeri</i>	4-Ring, 5 Bivalente	1950	0,63	0,06	0,50	1,50	200
<i>Oe. Hookeri</i> × <i>suaveolens sulf.</i>	<i>hHookeri</i> · <i>flavens</i>	4-Ring, 5 Bivalente	1950	0,55	0,05	1,00	1,00	200
<i>Oe. Lamarkiana</i> × <i>suaveolens sulf.</i>	<i>flavens</i> · <i>flavens</i>	2 · 4-Ringe, 3 Bivalente	1950	0,36	0,23	1,89	2,36	212
<i>Oe. suaveolens sulf.</i> × <i>Lamarkiana</i>	<i>flavens</i> · <i>velans</i>	2 · 4-Ringe, 3 Bivalente	1950	0,58	0,19	0,50	1,25	400
<i>Oe. Lamarkiana</i> × <i>grandiflora</i>	<i>flavens</i> · <i>acuens</i>	6-Ring, 4-Ring, 2 Bivalente	1950	0,45	0,28	3,50	5,50	200
<i>Oe. suaveolens sulf.</i> × <i>Hookeri</i>	<i>saliciana</i> · <i>hHookeri</i>	14-Ring	1950	1,24	0,10	1,00	2,00	200
<i>Oe. Hookeri</i>	<i>hHookeri</i>	7 Bivalente	1951	0,19	1,07	0,75	5,50	400
<i>Oe. franciscana</i> × <i>Lamarkiana</i>	<i>hfranciscana</i> · <i>velans</i>	4-Ring, 5 Bivalente	1951	0,64	0,05	0,51	0,77	390
<i>Oe. suaveolens sulf.</i> × <i>Hookeri</i>	<i>hfranciscana</i> · <i>velans</i> · <i>hHookeri</i>	4-Ring, 5 Bivalente	1951	0,61	0,05	1,00	1,00	400
<i>Oe. Hookeri</i> × <i>Lamarkiana</i>	<i>hHookeri</i> · <i>velans</i>	4-Ring, 5 Bivalente	1951	0,66	0,04	1,47	3,68	272
<i>Oe. Lamarkiana</i> × <i>suaveolens sulf.</i>	<i>velans</i> · <i>flavens</i>	2 · 4-Ringe, 3 Bivalente	1951	1,11	0,08	1,25	2,00	400
<i>Oe. Lamarkiana</i> × <i>grandiflora</i>	<i>velans</i> · <i>acuens</i>	6-Ring, 4-Ring, 2 Bivalente	1951	0,78	0,24	2,50	3,00	400
<i>Oe. Lamarkiana</i>	<i>velans</i> · <i>gaudens</i>	12-Ring, 1 Bivalent	1951	1,13	0,10	1,90	2,38	420
<i>Oe. suaveolens</i> × <i>Hookeri</i>	<i>saliciana</i> · <i>hHookeri</i>	14-Ring	1951	1,56	0,06	0,71	1,67	420
<i>Oe. Hookeri</i>	<i>hHookeri</i> · <i>hHookeri</i>	7 Bivalente	1952	0,06	1,35	0,95	7,14	420
<i>Oe. franciscana</i>	<i>hfranciscana</i> · <i>hfranciscana</i>	7 Bivalente	1952	0,07	0,30	0,95	2,86	420
<i>Oe. grandiflora</i>	<i>acuens</i> · <i>acuens</i>	7 Bivalente	1952	0,22	0,38	0,25	2,75	400
<i>Oe. Lamarkiana</i> × <i>grandiflora</i>	<i>velans</i> · <i>acuens</i>	6-Ring, 4-Ring, 2 Bivalente	1952	0,94	0,18	0,71	1,43	420

M. BA. = Mittelwert des Bindungsausfalls je Zelle. — M. I. Ch. = Mittelwert der interstitiellen Chiasmien je Zelle.
Die Häufigkeit der Zellen mit Aberrationen ist in Prozenten angegeben.

daß die Differenzen für den Bindungsausfall und die interstitiellen Chiasmen in den Werten zwischen diesen Jahren in keinem Fall gesichert sind. Anders ausgedrückt: Es besteht Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Daß im übrigen die Ellipsen in ihrem Durchmesser so ungemein verschieden sind, röhrt daher, daß 1950 nur 200 Zellen, in den anderen Jahren dagegen die doppelte Anzahl für jede Untersuchung ausgewertet wurden. Daraus ist ersichtlich, daß Erhöhung der Individuenzahl den Konfidenzbereich konzentriert. Abgesehen davon finden wir, daß im Jahre 1951 in allen untersuchten Pflanzen der Endbindungsausfall höher und die interstitiellen Chiasmen seltener als 1950 sind. Zwar sind diese Unterschiede nicht gesichert, aber da sie in den beiden Jahren in die gleiche Richtung weisen, ist es evident, daß es sich dabei um Reaktionen der Meiosis auf die

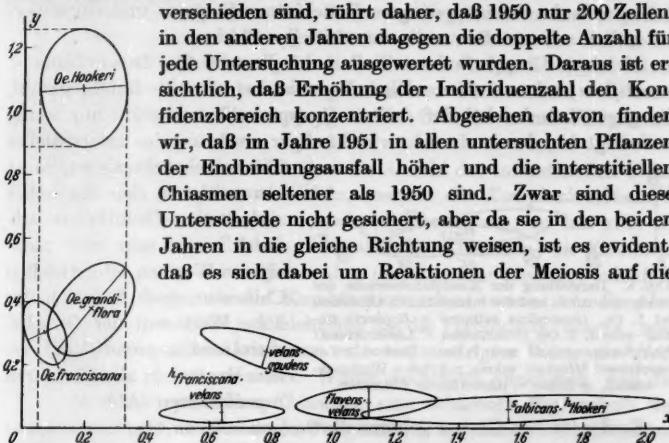


Abb. 7. Darstellung der Konfidenzbereiche des Bindungsausfalls und der interstitiellen Chiasmen bei *Oe. Hookeri*, *Oe. franciscana* und *Oe. grandiflora* sowie bei den Bastarden *Oe. (franciscana x Lamarckiana)*, *Oe. (Lamarckiana x grandiflora)*, *Oe. (Lamarckiana x suaveolens sulfurea)* und *Oe. (suaveolens x Hookeri)*. Bei den Bastarden ist die untersuchte Komplexkombination in die Ellipsen eingetragen. x-Achse = Bindungsausfall, y-Achse = interstitielle Chiasmen.

verschiedenen Wetterverhältnisse in den beiden Jahren handelt (OEHLKERS 1935, 1936; KISCH 1937).

Aus Abb. 7, in der die wesentlichen Resultate aus den Jahren 1951 und 1952 eingetragen sind, wird deutlich, daß man 5 Gruppen bezüglich der Werte für interstitielle und Endchiasmen unterscheiden kann. Als ausgefallenste Form charakterisiert sich eindeutig die *Oe. Hookeri*. Ihre Lage im Koordinatensystem gibt an, daß sie bei niedrigem Bindungsausfall eine sehr große Zahl von interstitiellen Chiasmen besitzt. In demselben Streubereich für den Bindungsausfall wie die *Oe. Hookeri* liegen auch die beiden anderen mit 7 Bivalenten versehenen Homozygoten, die *Oe. franciscana* und *Oe. grandiflora*. Dabei haben beide unter sich denselben Wert für das interstitielle Chiasma, von der *Oe. Hookeri* aber einen grundsätzlich verschiedenen.

Die dritte Gruppe umfaßt sämtliche Bastarde mit einem 4-Ring und 5 Bivalenten. Sie wird nur der Übersichtlichkeit halber allein durch *Oe. (franciscana x Lamarckiana) 1/4 franciscana · velans* repräsentiert. Daß

diese Vereinfachung zulässig ist, ergibt die Einzeldarstellung (Abb. 8), aus der hervorgeht, daß die 3 Bastarde sowohl im Endbindungsausfall als auch in der Frequenz des interstitiellen Chiasmas übereinstimmen. Von den 3 komplexhomozygotischen Arten unterscheiden sich diese 3 Bastarde durch eine geringere Endchiasmenfrequenz und ein außerordentlich selten auftretendes interstitielles Chiasma.

Als vierte Gruppe finden wir allein den Bastard *Oe. (Lamarckiana × grandiflora) velans · acuens*. Diese Form ist bei einer Endbindungszahl, die gegenüber der bei der dritten Gruppe vorkommenden nur wenig erniedrigt ist, durch ein sehr viel häufiger erscheinendes interstitielles

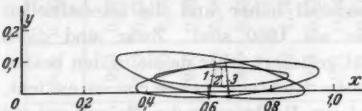


Abb. 8. Darstellung der Konfidenzbereiche des Bindungsausfalls und der interstitiellen Chiasmen bei 1. *Oe. (suaveolens sulfurea × Hookeri) flavens · velans*, 2. *Oe. (franciscana × Lamarckiana) × franciscana · velans* und 3. *Oe. (Hookeri × Lamarckiana) × Hookeri · velans*. x-Achse = Bindungsausfall, y-Achse = interstitielle Chiasmen.

Chiasma charakterisiert. Sonst kennzeichnen sich die höher verketten Oenotheren alle durch einen sehr viel niedrigeren Wert an interstitiellen Chiasmen, doch ließ sich der hohe Wert von der *Oe. (Lamarckiana × grandiflora) velans · acuens* in allen 3 Jahren reproduzieren (Abb. 5).

Zu der fünften Gruppe gehören die *Oe. Lamarckiana*, *Oe. (Lamarckiana × suaveolens) velans · flavens* und *Oe. (suaveolens × Hookeri) albicans · × Hookeri*. Die *Oe. Lamarckiana* ist aus dem Schema weggelassen, weil ihre Streubereiche genau mit denen des Bastardes *Oe. (Lamarckiana × suaveolens) velans · flavens* übereinstimmen. Charakteristisch ist in dieser Gruppe der hohe Endbindungsausfall und die selten auftretenden interstitiellen Chiasmen. Für den Bastard *Oe. (suaveolens × Hookeri) albicans · × Hookeri*, der noch mit in die angegebene Gruppe gehört, ist ein sehr hoher Bindungsausfall mit einem enormen Streubereich kennzeichnend.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die homozygoten, kalifornischen Oenotherarten eine sehr viel höhere Chiasmenfrequenz besitzen als die hochverketten Komplexheterozygoten. Das gleiche Phänomen wurde an denselben Homozygoten schon von OEHLKERS (1937) und HASELWARTER (1937) festgestellt und dort als geringer Bindungsausfall gekennzeichnet. Die damit konstatierte hohe Chiasmenfrequenz erstreckt sich also nicht nur auf die Endchiasmen, sondern ebenso auf die interstitiellen. Für die außerordentliche Häufigkeit des interstitiellen Chiasma bei der *Oe. Hookeri* Freiburg gibt ihre Genese als aufregulierte Haploide (MARQUARDT 1943) eine Möglichkeit der Erklärung. Im übrigen hat MARQUARDT (1937, 1947, 1951, 1952) zu mannigfältigen Versuchen die *Oe. Hookeri* DE VRIES verwendet; er konstatiert in der Diakinese eine nahezu vollständige Terminalisation der Chiasmen, so

daß man also für die *Oe. Hookeri* DE VRIES annehmen kann, daß kaum interstitielle Chiasmen vorhanden sind.

Für den Endbindungsausfall ist festzustellen, daß er mit steigender Verkettung der Chromosomen zunimmt; dagegen das interstitielle Chiasma mit der einzigen Ausnahme von *Oe. (Lamarckiana × grandiflora) velans · acuens* durchweg äußerst selten auftritt. In diesem Bastard haben wir eine Form gefunden, die trotz vorhandener und relativ hoher Verkettung ein nur wenig selteneres Vorkommen von interstitiellen Chiasmen als die homozygotischen Oenotheren mit 7 Bivalenten aufweist.

Demnach entscheiden also über die Anzahl der interstitiellen Chiasmen nicht die Komplexe als solche, sondern die Komplexkombination. Das ergibt sich auch aus einer anderen Überlegung: es hat z.B. die *Oe. Hookeri* eine hohe Zahl von interstitiellen Chiasmen; die Kombination des Komplexes mit anderen aber nur eine sehr niedrige, jedenfalls bedeutend niedriger als die Kombination *velans · acuens* aus *Oe. (Lamarckiana × grandiflora)*. Gleichzeitig hat die Verbindung (*acuens · acuens*) der *Oe. grandiflora* wiederum sehr viel niedrigere Werte als ¹*Hookeri* · ¹*Hookeri* aus *Oe. Hookeri*. Wollte man etwa annehmen, daß die Bildung von interstitiellen Chiasmen eine inhärente Eigenschaft der Komplexe sei, so müßte deren Frequenz bei der Komplexkombination *flavens · 1 Hookeri* aus *Oe. (suaveolens × Hookeri)* und bei ¹*Hookeri* · *velans* aus *Oe. (Hookeri × Lamarckiana)* größer sein als bei der Kombination *velans · flavens* der *Oe. (Lamarckiana × suaveolens)*.

Bei Auswertung der Diakinesen wurden nicht nur die interstitiellen Chiasmen und die Endbindungen gezählt, sondern die Zellen auch auf zytologische Abweichungen vom normalen Verhalten hin betrachtet (Tabelle 2). Dabei zeigt sich eine deutliche Korrelation zwischen der Verklebungstendenz, die sich durch Matrixbrücken zwischen 2 oder mehreren Chromosomen andeutet, und dem Auftreten von interstitiellen Chiasmen. Diese Verklebungen, die für das Diplotan von *Oenothera* (MARQUARDT 1937, JAPHA 1939) charakteristisch sind, sind in der mittleren Diakinese im allgemeinen verschwunden. Daß aber nach verschiedenartigen Einwirkungen — schon der Aufenthalt in der 10°-Kältekammer setzt die Zahl der Verklebungen stark herauf — diese Erscheinung sich häuft, zeigt eine unterschiedliche Reaktion der Meiosis. Wenn viele interstitielle Chiasmen beobachtet werden, steigt gleichzeitig der Prozentsatz verklebter aber noch analysierbarer Zellen. Diese Korrelation ist mit einem Korrelationskoeffizienten $r = 0,8625$ mit $P < 0,001$ signifikant.

III. Der Einfluß der Kreuzkonjugation auf die Chiasmenfrequenz.

OEHLKERS (1935) hat schon in seiner ersten Arbeit über die Physiologie der Meiosis einen Einfluß der Kreuzkonjugation auf den Bindungsausfall feststellen können. JAPHA (1939) nahm die Frage erneut an größerem Material auf und konnte zeigen, daß der Bindungsausfall für jeden 4-Ring wächst, daß aber der Einfluß bei höherem Verkettungsgrad

sich nicht mehr wesentlich steigert. Wie verhält sich nun in dieser Beziehung das interstitielle Chiasma? Zeigt es auch ein bevorzugtes Vorkommen auf Ringen oder Bivalenten? Schon aus den Beobachtungen an den verschiedenen Bastarden läßt sich vermuten, daß die Bivalente bevorzugte Orte des interstitiellen Chiasmas seien. RENNER (1948) findet tatsächlich bei *Oe. Lamarckiana velutina* und *Oe. suaveolens* die interstitiellen Chiasmen häufiger im Paar. An den hier untersuchten Oenotherenarten konnten die Befunde von OEHLKERS und JAPHA über den erhöhten Bindungsausfall im 4-Ring bei einer Prüfung mit dem χ^2 -Test bestätigt und gesichert werden (Tabelle 3).

Tabelle 3. Verteilung des Bindungsausfalls auf Ringe und Bivalente.

Kreuzung	Kombination	Jahr	M %	M % 4-Ring	M % Bivalente	P
<i>Oe. franciscana</i> × <i>Lamarckiana</i>	<i>hfranciscana</i> · <i>velans</i> ·	1950	2,64	3,25	2,40	0,2
		1951	4,56	5,20	4,40	0,22
<i>Oe. suaveolens</i> × <i>Hookeri</i>	<i>flavens</i> · <i>hHookeri</i>	1950	4,50	6,22	3,78	0,006
		1951	4,25	6,81	3,23	0,001
<i>Oe. Hookeri</i> × <i>suaveolens</i>	<i>hHookeri</i> · <i>flavens</i>	1950	4,00	6,65	2,86	0,001
<i>Oe. Hookeri</i> × <i>Lamarckiana</i>	<i>hHookeri</i> · <i>velans</i>	1950	8,00	10,75	6,55	<0,001
		1951	4,73	6,07	4,08	0,01

Kreuzung	Kombination	Jahr	M % gesamt	M % 2 × 4-Ring	M % 3 Biva- lente	P
<i>Oe. Lamarckiana</i> × <i>suaveolens</i>	<i>velans</i> · <i>flavens</i>	1950	2,59	3,01	1,98	0,05
<i>Oe. suaveolens</i> × <i>Lamarckiana</i>	<i>flavens</i> · <i>velans</i>	1950	5,93	5,09	2,81	<0,01

Kreuzung	Kombination	Jahr	M % gesamt	M % 6-Ring	M % 4-Ring	M % 2 Biva- lente	P
<i>Oe. Lamarckiana</i> × <i>grandiflora</i>	<i>velans</i> · <i>acuens</i>	1950	3,17	4,25	2,38	2,13	0,011
		1951	5,54	7,04	5,81	2,25	<0,001
		1952	6,67	9,33	6,85	2,50	<0,001

Kreuzung	Kombination	Jahr	M % gesamt	M % 12-Ring	M % Biva- lent	P
<i>Oe. Lamarckiana</i>	<i>velans</i> · <i>gaudens</i>	1951	8,04	8,82	1,67	0,001

M% = Mittelwert in Prozenten der geöffneten Bindungen in der Berechnungsweise von OEHLKERS (1935). Die Anteile der Ringe sind ebenfalls als Mittelwerte in den Prozentsätzen ihrer möglichen Bedingung angegeben.

Oe. (franciscana × Lamarckiana) ^hfranciscana · velans ist die einzige Form für die die niedrigere Endchiasmenfrequenz des 4-Ringes nicht gesichert ist. Bei *Oe. (Lamarckiana × grandiflora) velans · acuens* ist der höhere Endbindungsauftaupfall der Ringe den Bivalenten gegenüber mit $P < 0,001$ signifikant. Auch zwischen 6-Ring und 4-Ring finden sich gesicherte Differenzen ($P = 0,005$), die übrigens bei *Oe. (muricata × suaveolens) rigens · flavens* mit der gleichen Chromosomenkonfiguration nach JAPHA (1939) nicht auftreten.

Für das interstitielle Chiasma lässt sich das gehäufte Vorkommen bei den Bivalenten nicht bei allen Komplexkombinationen sichern. Bei den Formen mit einem 4-Ring ist die größere Häufigkeit des interstitiellen Chiasmas bei den restlichen 5 Bivalenten nur für *Oe. (franciscana × Lamarckiana) ^hfranciscana · velans* (1950) gesichert. Gesicherte Werte finden sich auch bei der *Oe. (Lamarckiana × grandiflora) velans · acuens* 1950 und 1952, sowie *Oe. Lamarckiana* (vgl. Tabelle 4). Diese Sicherung bleibt auch dann bestehen, wenn sie nicht auf die möglichen Endbindungen, sondern auf den Bestand an vorhandenen Endbindungen prozentual bezogen wird. Die Tendenz des bevorzugten Auftretens von interstitiellen Chiasmen in den Bivalenten ist immer vorhanden, ganz gleich welche Chromosomen diese Bivalente bilden. So sind für die *Oe. (Lamarckiana × grandiflora) velans · acuens* und *Oe. Lamarckiana* die Translokationsweisen bezogen auf die *Oe. Hookeri* bekannt. Für *velans · acuens*:

<i>velans</i>	1.2	\times	4.3	5.8	\times	6.7	\times	9.10	11.12	13.14
<i>acuens</i>	1.4	\times	2.3	5.6	\times	8.9	\times	7.10	11.12	13.14

und für *velans · gaudens*:

<i>velans</i>	1.2	3.4	\times	11.12	\times	9.10	\times	7.6	\times	13.14	\times	5.8
<i>gaudens</i>	1.2	3.11	\times	4.9	\times	12.7	\times	10.13	\times	6.5	\times	14.8

Es sind also die Chromosomen 1.2, 11.12 und 13.14 an der Bivalentbildung beteiligt und in beiden Fällen sind die Unterschiede gegenüber den verketteten Chromosomen gesichert.

IV. Die Chiasmenfrequenz bei verschiedenen Außenbedingungen.

In den Arbeiten zur Physiologie der Meiosis (OEHLKERS 1935 bis LINNERT 1953, vgl. S. 278) konnten die Bedingungen aufgezeigt werden, die das Konjugationsverhalten und die Chiasmenbildung während der Meiosis beeinflussen. Es war daher naheliegend, auch das Verhalten der interstitiellen Chiasmen unter den gleichen experimentellen Einflüssen zu studieren. Besonders nachdrücklich wirkt sich auf den Endbindungszustand bei *Oenothera* der Temperaturschock aus (OEHLKERS 1936). Wirksam wird der Temperaturwechsel aber erst dann, wenn jede Temperatur mindestens 3 Std einwirken kann (LINNERT 1953). Eine weit

Tabelle 4. Verteilung der interstitiellen Chiasmen auf Ringe und Bivalente.

Kreuzung	Kombination	Jahr	M % gesamt	M % 4-Ring	M % 5 Bivalente	P-Werte
<i>Oe. franciscana</i> × <i>Lamarckiana</i>	<i>hfranciscana</i> · <i>velans</i>	1950	1,18	0,25	1,6	0,0035
		1951	0,34	0,32	0,40	0,84
<i>Oe. suaveolens</i> × <i>Hookeri</i>	<i>flavens</i> · <i>hHookeri</i>	1950	0,39	0,35	0,50	0,74
		1951	0,36	0,30	0,50	0,22
<i>Oe. Hookeri</i> × <i>Lamarckiana</i>	<i>hHookeri</i> · <i>velans</i>	1950	1,54	1,25	1,85	0,54
		1951	0,29	0,09	0,37	0,15
<i>Oe. Hookeri</i> × <i>suaveolens</i>	<i>hHookeri</i> · <i>flavens</i>	1950	0,39	0,25	0,4	0,44

Kreuzung	Kombination	Jahr	M % gesamt	M % 2 × 4-Ring	M % 3 Bivalente	P-Werte
<i>Oe. Lamarckiana</i> × <i>suaveolens</i>	<i>velans</i> · <i>flavens</i>	1950	1,62	1,34	2,00	0,16
		1951	0,61	0,66	0,54	0,58

Kreuzung	Kombination	Jahr	M % gesamt	M % 6-Ring	M % 4-Ring	M % 3 Bivalente	P-Werte
<i>Oe. Lamarckiana</i> × <i>grandiflora</i>	<i>velans</i> · <i>acuens</i>	1950	2,00	0,75	1,5	3,17	<0,01
		1951	1,71	1,5	1,81	1,94	0,28
		1952	1,31	0,60	1,31	2,38	<0,001
				12-Ring		Bivalente	
<i>Oe. Lamarckiana</i>	<i>velans</i> · <i>gaudens</i>	1951	0,71	0,56	1,90		<0,001

M % = Mittelwert in Prozent der interstitiellen Chiasmen, bezogen auf die möglichen Endbindungen.

größere Beeinflussung des Endbindungsausfalls als durch den Temperaturwechsel konnte nach der Behandlung von Infloreszenzen mit anorganischen Salzlösungen konstatiert werden (LINNERT 1953). Auf Grund dieser Ergebnisse und der Beobachtung STANGES (1951), daß die Zahl der interstitiellen Chiasmen bei der Einwirkung von K_2SO_4 erhöht wird, wurden die Versuche angesetzt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 zusammengefaßt.

Außer den Werten für den Bindungsausfall und das interstitielle Chiasma je Zelle, dem Aberrationsprozentsatz und dem Verklebungsprozentsatz ist noch angegeben, ob Unterschiede zwischen den Pflanzen eines Versuches für die interstitiellen Chiasmen und den Bindungsausfall vorhanden sind. Diese Angaben beziehen sich auf varianzanalytisch erhaltene Werte von $P = 0,01$.

Tabelle 5. Versuche mit *Oe. Hookeri* 1952.

Bedingungen	M. BA.	M. I. Ch.		Aberra-tionen	Verkle-bungen	Gesicherte Unterschei-dung zwischen den Pflanzen		
		je Zelle	je v. B.			BA.	I. Ch.	BA. + I. C.
Freiland . . .	0,06	1,35	1,35	0,95	7,14	nein	nein	nein
2 Tage Schock .	0,93	1,35	1,45	2,14	19,05	nein	nein	nein
4 Tage Schock .	0,82	0,72	0,76	1,90	10,00	nein	ja	ja
5 Tage 10^0 . .	4,05	0,53	0,74	1,90	9,29	ja	nein	nein
1/100 K_2SO_4 . .	4,63	1,24	1,84	4,76	19,22	nein	nein	nein
1/100 $AlCl_3$. .	5,20	0,59	0,94	4,05	16,19	ja	ja	ja
1/100 $KSCN$. .	6,30	0,79	1,43	4,29	18,81	ja	ja	ja

M. BA. = Mittelwert des Bindungsausfalls je Zelle.

M. I. Ch. = Mittelwert der interstitiellen Chiasmen je Zelle.

M. I. Ch. je v. B. = Mittelwert der interstitiellen Chiasmen je vorhandener Bindung. Die Häufigkeit der Zellen mit Aberrationen und Verklebungen ist in Prozenten angegeben.

Es ist aus diesen Berechnungen zu entnehmen, daß im Freiland, im 2-Tage-Temperaturschock- und im Kaliumsulfatversuch alle untersuchten Individuen gleich reagieren. Unter extremen Bedingungen (Aluminiumchlorid- und Kaliumrhodanidversuch) dagegen sind die Unterschiede zwischen den einzelnen Pflanzen so groß, daß sowohl für den Bindungsausfall als auch für die interstitiellen Chiasmen gesicherte Unterschiede nachgewiesen sind. Bei dem 4-Tage-Temperaturschockversuch sind die Differenzen zwischen den Pflanzen nur für die interstitiellen Chiasmen, bei dem 5-Tage- 10^0 -Versuch nur für den Bindungsausfall festgestellt.

Im übrigen ist noch einmal berechnet worden, wie sich bei steigendem Bindungsausfall, der experimentell herbeigeführt wurde, das interstitielle Chiasma verhält. Diese Werte und ihre statistische Sicherung sind in Abb. 9 eingetragen. Bei allen 6 Versuchen bestehen gesicherte Unterschiede für das Merkmalpaar Bindungsausfall—interstitielles Chiasma, da die Ellipsen sich nie überschneiden.

Sofort wird deutlich, daß der Bindungsausfall und das interstitielle Chiasma auf die Versuchsbedingungen nicht gleichartig reagieren. Während der Bindungsausfall je nach den Einwirkungen sich gleichmäßig steigert, zeigt das interstitielle Chiasma keine eindeutige Reaktion. Der Bindungsausfall ist nach der Schockbehandlung dem Freiland gegenüber deutlich heraufgesetzt. Der Erfolg nach 2 Tagen und nach 4 Tagen Schock aber ist der gleiche; d.h. die Einwirkungsdauer spielt hier keine Rolle. Einen auffallend hohen Bindungsausfall zeigen die Pflanzen, die 5 Tage lang bei 10^0 in der Kältekammer standen, was vor allem dann unerwartet ist, wenn man deren Resultate mit den Schockversuchen vergleicht. Dieser eben genannte Versuch war jedoch ursprünglich nur

als Kontrolle für die gleichzeitig behandelten Salzversuche in die Kältekammer gestellt worden. Ein Blick auf die Abb. 9 zeigt, daß die Freiland- und Schockversuche einerseits und die 3 Salzversuche und ihre Kontrollen andererseits eine deutlich getrennte Gruppe bilden. Der Grund hierfür mag in der Tatsache zu suchen sein, daß bei Beginn der 4 letzteren Versuche im Jahre 1952 eine Hitzperiode ausgebrochen war. Die Pflanzen standen also schon im Freiland unter viel ungünstigeren Bedingungen und waren in einem weitaus labileren Zustand als sie der experimentellen Behandlung ausgesetzt wurden.

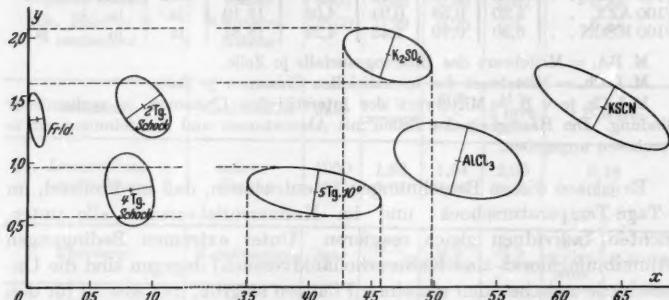


Abb. 9. Darstellung der Konfidenzbereiche des Bindungsausfalls und der interstitiellen Chiasmen bei *Oc. Hookeri* im Freiland, im 2-Tage- und im 4-Tage-Schockversuch, sowie bei den Salzversuchen mit $1/100$ K_2SO_4 , $1/100$ AlCl_3 , $1/100$ KSCN und ihrer zugehörigen Kontrolle. x-Achse = Bindungsausfall, y-Achse = interstitielle Chiasmen.

Bei den Salzversuchen sind unter sich und gegenüber ihrer zugehörigen Kontrolle gesicherte Unterschiede in der Endchiasmenfrequenz vorhanden. Die Steigerung des Bindungsausfalls, die sich nach der Einwirkung von $1/100$ K_2SO_4 bemerkbar macht, ist noch nicht von der H_2O -Kontrolle gesichert, aber für AlCl_3 und KSCN ist der höhere Endbindungsausfall gegenüber der Kontrolle durchaus signifikant. Das noch seltener Vorkommen von Endbindungen nach KSCN-Behandlung gegenüber der von AlCl_3 ist ebenfalls statistisch gesichert.

Für das interstitielle Chiasma ist keine derartig starke Beeinflussung wie für den Bindungsausfall aufzufinden, es zeigt vielmehr bis auf den 4-Tage-Schockversuch und die $10^\circ\text{-H}_2\text{O}$ -Kontrolle keine Senkung dem Freiland gegenüber. Bei der K_2SO_4 -Einwirkung traten wie bei STANGE (1951) auffallend häufig interstitielle Chiasmen auf. Dieser Wert ist sowohl von dem des Freilandversuches als auch von der H_2O -Kontrolle mit $P < 0,01$ verschieden. Die andersartige Einwirkung auf Bindungsausfall und interstitielles Chiasma zeigt sich ganz deutlich bei dem Vergleich von 2 Versuchen. Als Beispiel diene die H_2O -Kontrolle und der K_2SO_4 -Versuch. In ihrem gemeinsamen Bereich des Bindungsausfalls

(gestrichelte Linien auf die x -Achse) findet sich kein Punkt, in dem sie auch für das interstitielle Chiasma den gleichen Wert haben (gestrichelte Linie auf die y -Achse).

Vergleichen wir den Verklebungsprozentsatz und den Mutationsprozentsatz mit dem Auftreten von interstitiellen Chiasmen, so besteht wieder eine Beziehung zwischen der Häufigkeit von zytologisch zu beobachtenden Störungen und interstitiellem Chiasma. Sie liegt in der gleichen Richtung, die wir schon bei dem Vergleich verschiedener Bastarde fanden: Bei sichtbaren pathologischen Veränderungen in der Diakinese steigt die Zahl der interstitiellen Chiasmen ebenfalls an. Die Gestalt der interstitiellen Chiasmen wurde in den Versuchen nicht verändert.

D. Diskussion der Ergebnisse.

I. Auftreten und Verbreitung der interstitiellen Chiasmen bei Oenothera.

Das Auftreten der interstitiellen Chiasmen ist sehr verschieden aufgefaßt worden. GATES (1914, 1928), der — wie schon einleitend bemerkt — solche Chromosomenfiguren zuerst gesehen und abgebildet hat, erklärt sie durch Chromatinverlust der Chromosomen. HÄKANSSON (1930) findet sie mit besonderer Häufigkeit bei Trisomen, doch befaßt er sich nicht mit Interpretationsversuchen seiner Figuren, sondern sieht ihr Vorkommen lediglich als Bestätigung für parasyndetische Chromosomenkonjugation an, was CATCHESIDE (1931) unterstreicht. Tatsächlich war in jener Zeit die Parasyndese bei *Oenothera* noch immer etwas umstritten; DARLINGTON setzt sie für seine Überlegungen voraus (1931), einigermaßen bewiesen wurde sie erst von MARQUARDT (1937).

Bemerkenswert sind die Überlegungen DARLINGTONS über die interstitiellen Chiasmen. Vorausgesetzt wird, daß alle Endverbindungen der Chromosomen auch bei *Oenothera* terminalisierte Chiasmen sind, und das Auftreten von interstitiellen erklärt er nun so, daß damit zugleich seine Theorie des interstitiellen und differentiellen Segmentes bei *Oenothera* entwickelt wird. Danach liegen die interstitiellen Segmente in einer Kreuzkonjugationsfigur zwischen Insertionsstelle und Translokationspunkt. Als differentielle Segmente definiert er homologe Mittelstücke von 2 Chromosomen, deren Endsegmente die Homologie nicht fortsetzen. Solche differentiellen Segmente werden nun meistens bei Ringen von 6 Chromosomen oder solchen mit noch höherer Gliederzahl aufgewiesen. Bei Rücktranslokationen wäre es natürlich auch möglich, daß sie im Ring von 4 Chromosomen oder in Bivalenten vorkämen (vgl. auch MARQUARDT 1941). Nach DARLINGTON können nun interstitielle Chiasmen lediglich in solchen interstitiellen oder differentiellen Segmenten auftreten. Sie bleiben liegen, weil nach seiner Meinung niemals Terminalisationen über einen Translokationspunkt hinausgehen,

eine theoretische Voraussetzung, die freilich zweifelhaft ist. Diese Theorie sucht er durch den Befund zu stützen, daß er bei *Oe. Lamarckiana* und *Oe. biennis* in der Tat nur unter den verketteten Chromosomen entsprechende Figuren findet. Freilich genügt sein empirisches Material keineswegs, weil in beiden von ihm untersuchten Oenotherenarten lediglich ein einziges Bivalent vorzufinden ist: das der *Oe. Lamarckiana*, die im übrigen noch einen Chromosomenring von 12 Gliedern aufweist; die *Oe. biennis* besitzt einen Ring von 8 und einen von 6 Chromosomen.

RENNER (1942, 1948) bezweifelt die Natur der Endverbindungen als terminalisierte Chiasmen und möchte als echte Chiasmen, die einen crossing-over Effekt herbeiführen, lediglich die interstitiellen ansehen. Seine Gründe dafür liegen in dem bei *Oenothera* beobachteten entweder auffällig niedrigen oder 50%igen crossing-over (OEHLKERS 1933, 1938, 1940; RENNER 1942, 1948), zu dem die hohe Zahl der Endbindungen in keinem Verhältnis steht, wenn nicht, was nach seiner Meinung sehr zweifelhaft ist, die Chromosomenenden den gleichen Genbestand tragen. RENNER (1948) findet für seine Vorstellungen nun auch den interessanten Fall des Bastardes *Oe. (Lamarckiana × biennis) r · vet · velans · R · Ver-rubens*, bei dem der Vergleich des crossing-over-Prozentsatzes und der Häufigkeit der interstitiellen Chiasmen eine deutliche Parallele zeigt. Gegen eine Verallgemeinerung dieses besonderen Einzelfalles sprechen erstens: die früheren Befunde von OEHLKERS (1938, 1940), ERNST (1938, 1940) und HARTE (1942) über die Parallelen der durch äußere Bedingungen hervorgerufenen Verschiebungen der Werte für das crossing-over und der Endbindungen, oder — wie wir doch sagen wollen — der Endchiasmen. Und sodann HARTE 1948 publizierte zytogenetische Erfahrungen. Hier zeigt sie, daß außer der Besonderheit des entweder seltenen oder 50%igen crossing-over sich auch noch crossing-over-Zahlen zwischen den extremen Werten aufweisen lassen, und gerade für diese relativ häufig ausgetauschten Allele findet sich die von RENNER bezweifelte Parallele zu den Endchiasmen.

Wir haben nun von der Basis unserer hier vorgelegten rein zytologischen Ergebnisse aus zu den eben entwickelten Vorstellungen und Theorien Stellung zu nehmen. Wie im empirischen Teil mitgeteilt, wurden von uns strukturell sehr verschiedenenartige Formen wie bivalentbildende Homozygoten und mehr oder weniger hochverkettete alte oder frisch hergestellte Komplexheterozygoten untersucht. Zum anderen wurden statistisch genügende Zahlen ermittelt und endlich *gleichzeitig* an allen Materialien die Anzahl der interstitiellen und der Endchiasmen registriert. Dabei zeigt sich eindeutig, daß die Frequenz der interstitiellen und terminalisierten Chiasmen in den Formen mit 7 Paaren die höchste ist. Bei den verketteten Formen ist, obwohl sie im ganzen weniger interstitielle Chiasmen besitzen, für die in ihnen auftretenden

Paare, ganz gleich aus welchen Chromosomen sie gebildet sind, auch das interstitielle Chiasma häufiger als in den Ringen. Diese Ergebnisse stimmen mit RENNERS (1948) freilich statistisch nicht ganz ausreichenden Befunden überein. Daß die Prozentsätze bei RENNER etwas niedriger sind ist sowohl auf die verschiedenen Bedingungen als auch auf die Untersuchungen verschiedener Stadien zurückzuführen. Während RENNER die Metaphase zu quantitativen Auswertungen heranzieht, wurde von uns die Diakinese als Teststadium benutzt. Ein Vergleich von Diakinese und Metaphase bei gleichen Formen zeigt jedoch, daß die interstitiellen Chiasmen in der Diakinese gesichert häufiger sind als in der Metaphase.

Die Anhäufung von interstitiellen Chiasmen in den Bivalenten, die nicht nur auf solche mit besonders kurzen distalen Armen beschränkt ist, sondern sich auf alle Größenklassen erstreckt, steht im Widerspruch zu DARLINGTONS Annahme, daß der Homologiewechsel der Chromosomen für das Interstitiellbleiben der Chiasmen verantwortlich sei. DARLINGTONS Theorie folgend sollte man allein in den Ringen noch in den späteren Stadien interstitielle Chiasmen beobachten können.

Um das gehäufte Auftreten der interstitiellen Chiasmen in den Bivalenten zu erklären, kann man die Konjugationsverhältnisse heranziehen. Auf alle Fälle wird die Konjugation in den Bivalenten ungehinderter vor sich gehen; man kann also annehmen, daß dort mehr Chiasmen gebildet werden als auf den Ringen. Diese größere Anzahl von Chiasmen könnte die vollständige Terminalisation verhindern, so daß man in der Diakinese und Metaphase in den Bivalenten relativ häufig interstitielle Chiasmen erwarten darf. Daß aber nicht nur Konjugationsverhältnisse für die Erklärung interstitieller Chiasmen herangezogen werden dürfen, erhellt aus der Tatsache, daß sowohl zwischen homozygotischen als auch zwischen ringbildenden Formen Unterschiede in ihrer Häufigkeit bestehen. Diese Differenzen sind durch die jeweilige Komplexkombination gegeben, d.h. sie sind konstitutionell bedingt.

Bei der *Oenothera* nahe verwandten Gattung *Godetia*, die HÄKANSSON (1942) als „unvollendete *Oenothera*“ bezeichnet, finden sich ähnliche zytologische Verhältnisse. Die Frequenz der interstitiellen Chiasmen ist allerdings bei *Godetia* größer, aber auch hier sind die interstitiellen Chiasmen in den Ringen weit seltener zu beobachten als in den Bivalenten. Und ebenso bestehen auch hier unter den Bastarden Unterschiede in der Häufigkeit der interstitiellen Chiasmen. In einigen Fällen konnte HÄKANSSON zytogenetische Zusammenhänge zwischen crossing-over-Werten und Endchiasmen wahrscheinlich machen.

II. Experimentelle Untersuchungen der Chiasmenfrequenz.

Daß die Endchiasmen in einer erstaunlich exakten Abhängigkeit von den äußeren und inneren Bedingungen der betreffenden Pflanzen

stehen, haben die Versuche „Zur Physiologie der Meiosis“ aus dem Freiburger Institut (zit. S. 278) gelehrt. Dabei ist jedoch hervorzuheben, daß nicht allein die Endchiasmen betroffen werden, sondern auch die übrigen, wie es STRAUB bei *Campanula persicifolia* gezeigt hat. Dementsprechend war es in unserem Zusammenhang notwendig zu prüfen, wie sich die interstitiellen Chiasmen bei *Oenothera* unter experimentellen Bedingungen verhalten. Insbesondere mußte es interessieren, ob sie gleichartig wie die Endchiasmen reagieren.

Vergleicht man die Kälteschockversuche mit denen aus dem Freiland, so stellt sich heraus, daß ein erheblicher Bindungsausfall unter den künstlichen Bedingungen zu verzeichnen ist, die interstitiellen Chiasmen hingegen zeigen quantitativ gleiche Werte wie im Freiland. Ähnlich liegt es bei den Versuchen, welche die Einwirkung von Salzen demonstrieren, wobei als Kontrolle Infloreszenzen in Wasser dienen. Es zeigt sich, daß auch hier wieder ein erhöhter Bindungsausfall, also weniger Endchiasmen, festzustellen sind, daß aber die interstitiellen Chiasmen wieder in gleicher Anzahl erhalten bleiben, bzw. sogar noch vermehrt sind, wie es besonders bei den Kaliumsulfatversuchen auffällt. Zu bemerken ist, daß die Salzversuche die Mutationsrate erhöht haben, wie es auch OEHLKERS (1943), STANGE (1950) und LINNERT (1953) gezeigt haben.

Die Versuche stimmen mit denen von RENNER (1948) überein, der *Oenotheren* bei spärlicher und reichlicher Wasserversorgung verglich. Auch er gibt an, daß die Zahl der interstitiellen Chiasmen unter den veränderten Bedingungen gleichgeblieben ist, während die der Endchiasmen sinkt.

Die Interpretation dieser Befunde ist nicht ganz einfach. Wir greifen darauf zurück, daß STRAUB (1936) an *Campanula persicifolia* eine gleichartige Verschiebung von interstitiellen und Endchiasmen nach der Einwirkung hoher Temperaturen feststellte. Da für *C. persicifolia* im Gegensatz zu *Oenothera* eine Auszählung der Chiasmen im Diplotan möglich ist, konnte der Vorgang genauer analysiert werden. Bei *Campanula* ist die Ursache für den in der Diakinese festzustellenden erhöhten Bindungsausfall die mangelnde Chiasmenbildung in den früheren Stadien. Wir haben nun keinen Grund, diesen Befund nicht auch auf *Oenothera* zu verallgemeinern. Wenn wir also annehmen, daß unter experimentellen Bedingungen wenig Chiasmen gebildet werden, die interstitiellen Chiasmen aber dennoch in der gleichen Anzahl oder gar in erhöhter Menge gefunden werden, dann läßt sich das nur so verstehen, daß noch ein zweiter Einfluß durch die experimentellen Bedingungen verändert wird, daß nämlich die Terminalisationsgeschwindigkeit in erheblichem Maße herabgesetzt wird. Noch auf eine weitere Möglichkeit ist freilich hinzuweisen. Durch die Einwirkung der Salze Aluminiumchlorid, Kaliumsulfat und Kaliumrhodanid wird nachweislich die Mutationsrate erhöht,

d. h. also zytologisch ausgedrückt, chromatidale und chromosomale Translokationen oder sonstige Störungen herbeigeführt. Es wäre denkbar, daß die damit gegebenen Chromosomenveränderungen unmittelbar die Terminalisation an einem bestimmten Ort verhindern, so daß sich damit die interstitiellen Chiasmen als chromosomale Veränderungen anzeigen.

III. Verklebungen und interstitielle Chiasmen.

Die im zweiten Abschnitt gegebene Deutung, wonach eine Einwirkung der Chromosomenaberrationen auf die Terminalisation gegeben ist, gewinnt an Wahrscheinlichkeit durch die Parallele interstitieller Chiasmen mit Matrixbrücken und Verklebungen. Matrixreichtum ist für das Diplotan charakteristisch; er verschwindet im Lauf des Stadiums immer mehr (MARQUARDT 1937, JAPHA 1939), so daß die Diakinese kaum mehr Verklebungen, die auf die Matrixstörungen zurückzuführen sind, aufweist. Daß jedoch diese Matrixstörungen nicht zufällige Erscheinungen sind, sondern wahrscheinlich auf pathologischen Veränderungen im Zellstoffwechsel beruhen, zeigt ihre experimentelle Beeinflussbarkeit. Sobald der physiologische Zustand der Pflanzen, sei es durch Temperatureinwirkung oder Behandlung mit Salzen, beeinträchtigt wird, zeigen sich solche Störungen in erhöhtem Ausmaße gegenüber den Freilandpflanzen. Diese Störungen, die in einer Veränderung der Oberflächenbeschaffenheit der Chromosomen ihren Ursprung haben, gehören zu dem Komplex der „unspezifischen physiologischen Störungen“ (MARQUARDT 1948, 1949). Die „Verklumpung der Chromosomen“ (STANGE 1950), die unter Freilandbedingungen nicht vorkommen, muß von diesen Störungen getrennt werden. Sie wurde in den vorliegenden Versuchen, bei denen es auf einen Vergleich von interstitiellen Chiasmen und Endbindungen ankam, nicht ausgezählt. In den zytologisch zu beobachtenden physiologischen Störungen, wie „kalymmatische Verdünnung“ und Verklebungen zwischen den Chromosomen, sieht RESENDE (1941, 1950) Ursache und Bedingung für Chromosomenaberrationen. RESENDE leitet seine Theorie der Mutationsentstehung von diesen Erscheinungen ab, die er an Mitosen aus Geweben bei verschiedenen Objekten beobachtet hat. Es ist durchaus denkbar, daß der normale Ablauf der Chiasmen-Terminalisation in der Meiosis von *Oenothera* durch Matrixstörungen gehemmt oder gar verhindert werden könnte.

Die gesicherte Korrelation zwischen Verklebungen und interstitiellen Chiasmen läßt über das eben Erörterte hinaus vermuten, daß das interstitielle Chiasma eine pathologische Erscheinung sei. RENNER (1948) zeigt in seinen Anaphasebildern, daß unter gewissen Bedingungen Chiasmen zu Deletionen und Duplikationen führen. Der Grund dafür ist darin zu suchen, daß gewisse Chromatidtranslokationen zwischen homologen Chromosomen nicht von interstitiellen Chiasmen unterscheidbar sind. In der Abb. 10 sind ein echtes Chiasma und eine solche Chromatidtranslokation schematisch dargestellt. Die Anaphasebilder von *Oenothera* lassen keine endgültige Entscheidung darüber zu, wie die Bruchverheilung erfolgte. Eine gesicherte Korrelation zwischen Mutationsrate und interstitiellen Chiasmen, die einen Hinweis auf diese Zusammenhänge geben könnte, besteht nicht; denn bei der Zusammenfassung aller in dieser Hinsicht erarbeiteten Resultate ergibt sich ein Korrelationskoeffizient von $r = +0,1616$ ($P > 0,1$).

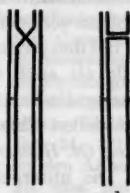


Abb. 10a u. b. Schema eines interstitiellen Chiasmas (a) und einer Chromatidtranslokation zwischen homologen Chromosomen (b).

Zusammenfassung.

Das Vorkommen und Verhalten von interstitiellen und terminalisierten Chiasmen wurde bei verschiedenen Oenotherenarten und Bastarden untersucht; außerdem wurde die Häufigkeit der interstitiellen Chiasmen bei experimentell durch Temperaturschock und Salzeinwirkung erhöhtem Bindungsausfall festgestellt. Es konnten folgende Zusammenhänge aufgewiesen werden:

1. Ein Vergleich der Chiasmenzahlen in der Diakinese und Metaphase zeigt, daß die Terminalisation der Chiasmen erst in der Metaphase abgeschlossen wird. Endbindungen und interstitielle Chiasmen sind in der Metaphase seltener als in der Diakinese.

2. Bei den strukturell homozygotischen Oenotheren sind sowohl interstitielle als auch terminalisierte Chiasmen häufiger als bei komplex-heterozygotischen Formen. Durch eine auffallende hohe Frequenz von interstitiellen Chiasmen zeichnet sich innerhalb der bivalentbildenden Formen *Oe. Hookeri* aus.

3. Die untersuchten heterozygotischen Formen unterscheiden sich in der Häufigkeit ihrer interstitiellen Chiasmen; der Grund dafür liegt in der Komplexkombination. Besonders häufig sind interstitielle Chiasmen bei *Oe. (Lamarckiana × grandiflora) acuens · velans*. Diese Erscheinung war in 3 verschiedenen Jahren reproduzierbar.

4. Die Bivalente sind bevorzugte Orte des interstitiellen Chiasma. Zur Erklärung werden Konjugationsverhältnisse herangezogen.

5. Temperaturschockversuche ergaben einen erhöhten Endbindungs-ausfall. Die interstitiellen Chiasmen traten in der gleichen Häufigkeit wie im Freiland auf.

6. In den Versuchen mit den anorganischen Salzen $AlCl_3$, $KSCN$, K_2SO_4 sind die Endchiasmen seltener, die interstitiellen Chiasmen dagegen häufiger als in der zugehörigen Kontrolle aufzufinden. Nach K_2SO_4 -Behandlung ist die Zahl der interstitiellen Chiasmen besonders groß. Das ungleiche Verhalten von terminalisierten und interstitiellen Chiasmen wird durch eine unterschiedliche Beeinflussung der Chiasmenbildung und Terminalisation erklärt.

7. Es besteht eine gesicherte Korrelation zwischen den in der Diakinese zu beobachtenden Matrixbrücken und der Anzahl der interstitiellen Chiasmen.

Literatur.

CATCHESIDE, D. G.: Critical evidence of parasynapsis in *Oenothera*. Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. B **109**, 165—184 (1931). — Chromosome configurations in trisomic Oenotheras. Genetica **15**, 177—201 (1933a). — Chromosome catenation in some F_1 *Oenothera* hybrids. J. Genet. **27**, 45—69 (1933b). — CLELAND, R. E., and W. H. BRITTINGHAM: Contribution to an understanding of crossing over within chromosome rings of *Oenothera*. Genetics **19**, 62—72 (1934). — DARLINGTON, C. D.: The cytological theory of inheritance in *Oenothera*. J. Genet. **14**, 405—474

(1931). — The limitation of crossing-over in *Oenothera*. *J. Genet.* **34**: 343—352 (1936). — Recent advances in cytology, 2. Aufl. London 1937. — ERNST, H.: Meiosis and crossing-over. Zytologische Untersuchungen an *Antirrhinum majus* L. *Z. Bot.* **33**, 241—294 (1938). — Zytogenetische Untersuchungen an *Antirrhinum majus* L. *Z. Bot.* **34**, 81—111 (1939). — FISHER, R. B., and F. YATES: Statistical tables for biological, medical and agricultural research. Edinburgh 1949. — GATES, R. R.: The cytology of *Oenothera*. *Bibl. Genet.* **4**, 401—492 (1928). — HÄKANSSON, A.: Zur Zytologie trisomischer Mutanten aus *Oenothera Lamarckiana*. *Hereditas* **14**, 1—32 (1930). — Zytologische Studien an Rassen und Rassenbastarden von *Godetia Whitneyi* und verwandten Arten. *Lunds Univ. Arsskr.*, N. F. **38**, 1—70 (1942). — HARTE, C.: Meiosis and crossing-over. Weitere Beiträge zur Zytogenetik von *Oenothera*. *Z. Bot.* **38**, 65—137 (1942). — Zytologisch-genetische Untersuchungen an spaltenden Oenotheren-Bastarden. *Z. Vererbungslehre* **82**, 495—640 (1948). — Untersuchungen über Gonenkonkurrenz und crossing-over bei spaltenden Oenotherenbastarden. *Z. Vererbungslehre* **85**, 97—117 (1953). — HASELWARTER, A.: Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis V. *Z. Bot.* **31**, 273—328 (1937). — IHM, P.: Ein Konfidenzbereich für den Erwartungswert eines Mittelwertpaars. *Z. Vererbungslehre* **86**, 54—60 (1954). — JAPHA, B.: Die Meiosis von *Oenothera* II. *Z. Bot.* **34**, 321—369 (1939). — KISCH, R.: Die Bedeutung der Wasserversorgung für den Ablauf der Meiosis (Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis VI). *Jb. wiss. Bot.* **85**, 450—484 (1937). — LAURITZEN, M.: Zytogenetische Untersuchungen an den Bas- und el-Koppelungsgruppen von *Antirrhinum majus* L. *Z. Vererbungslehre* **85**, 220—237 (1953). — LINNERT, G.: Der Einfluß von Chemikalien auf Chiasmenbildung und Mutationsauslösung bei *Oenothera*. *Chromosoma* **5**, 428—453 (1953). — Die Einwirkung von Chemikalien auf die Meiosis. *Z. Vererbungslehre* **83**, 422—428 (1950). — MARQUARDT, H.: Die Meiosis von *Oenothera* I. *Z. Zellforsch.* **27**, 159—210 (1937). — Über Bau, Häufigkeit und Auswirkungen der spontanen Translokationen. *Flora* **185**, 239—302 (1941). — Über eine röntgeninduzierte Mutation mit abweichendem Erbverhalten bei *Oenothera Hookeri*. *Flora, N. F.* **37**, 152—165 (1943). — Das Verhalten röntgeninduzierter Viererringe mit großen interstitiellen Segmenten bei *Oenothera Hookeri*. *Z. Vererbungslehre* **82**, 415—420 (1947). — Neuere Ergebnisse der Zytologie und Zytogenetik in ihrer Bedeutung für eine Grundlagenforschung der Chemotherapie der Tumoren. *Ärztl. Forsch.* **2**, 407—412 (1948). — Die Auslösung von Chromosomenmutationen durch Röntgenstrahlen und durch die Invertase Zephiriol in der Meiosis von *Oenothera Hookeri*. *Z. Vererbungslehre* **83**, 513—530 (1951). — Die Auslösung von Chromosomenmutationen in der Meiosis durch tiefe Temperatur. *Z. Vererbungslehre* **84**, 169—181 (1952). — OEHLKERS, F.: Crossing-over bei *Oenothera*. *Z. Bot.* **26**, 385—430 (1933). — Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis I. *Z. Bot.* **29**, 1—53 (1935). — Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis III. *Z. Bot.* **30**, 253—276 (1936). — Neue Versuche über zytologisch-genetische Probleme. *Biol. Zbl.* **57**, 126—149 (1937). — Über die Erblichkeit des *cruciata*-Merkmals bei den Oenotheren. Eine Erwiderung. *Z. Vererbungslehre* **75**, 277—297 (1938). — Meiosis and crossing-over. *Biol. Zbl.* **60**, 337—348 (1940a). — Meiosis and crossing-over. *Z. Vererbungslehre* **78**, 157—186 (1940b). — Die Auslösung von Chromosomenmutationen in der Meiosis durch Einwirkung von Chemikalien. *Z. Vererbungslehre* **81**, 313—341 (1943). — Weitere Versuche zur Mutationsauslösung durch Chemikalien. *Biol. Zbl.* **65**, 176—186 (1946). — Mutationsauslösung durch Chemikalien. *Sitzsber. Heidelberg. Akad. Wiss., math.-naturwiss. Kl.* **1949**. — Chromosome breaks induced by chemicals. *Heredity* **6**, Suppl., 95—105 (1953). — OEHLKERS, F., u. G. LINNERT: Neue Versuche über die Wirkungsweise von Chemikalien bei der Auslösung von Chromosomenmutationen. *Z. Vererbungslehre* **83**, 136—156 (1949).

Weitere Untersuchungen über die Wirkungsweise von Chemikalien bei der Auslösung von Chromosomenmutationen. *Z. Vererbungslehre* 83, 429—438 (1951). — OREHLKERS, F., u. H. MARQUARDT: Die Auslösung von Chromosomenveränderungen durch Injektion wirksamer Substanzen in die Knospen von *Paeonia tenuifolia*. *Z. Vererbungslehre* 83, 299—317 (1950). — RENNER, O.: Über das crossing-over bei *Oenothera*. *Flora* 136, 117—214 (1942). — Die zytologischen Grundlagen des crossing-over bei *Oenothera*. *Z. Naturforsch.* 3, 188—196 (1948). — RESENDE, F.: Movimento, aglutinação, ponte e distensão dos cromosomas na mitose. *Bol. Soc. Brot.* 15, 163—196 (1941). — Normal and abnormal metabolism, the cause of mutations. *Port. Act. Biol.* 8, 109—145 (1950). — STANGE, L.: Untersuchungen über den Einfluß von Begleitfaktoren auf die mutationsauslösende Wirkung der Röntgenstrahlen. *Z. Vererbungslehre* 83, 485—512 (1950). — STRAUB, J.: Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis II. *Z. Bot.* 30, 1—57 (1936). — Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis VII. *Z. Bot.* 32, 225—268 (1937). — WIEBALCK, U.: Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis XI. *Z. Bot.* 36, 162—212 (1940). — ZÜRN, K.: Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis IV. *Z. Bot.* 32, 577—603 (1937a). — Die Bedeutung der Plastiden für den Ablauf der Meiosis (Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis IX). *Jb. wiss. Bot.* 85, 706—731 (1937b). — Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis X. Neue Beiträge zur Kenntnis des Einflusses der Plastiden auf den Ablauf der Meiosis. *Z. Bot.* 34, 273—310 (1939).

Dr. ANITA HOFFMANN, Freiburg i. Br.,
Botanisches Institut der Universität, Schänzlestr. 9—11.

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg und dem Institut für
Entwicklungsphysiologie der Universität Köln.

DIE VERTEILUNG DER ENDCHIASMEN
AUF RING- UND BIVALENTCHROMOSOMEN BEI OENOTHERA
ALBICANS · STRINGENS.

Von

CORNELIA HARTE.

(Eingegangen am 27. Oktober 1953.)

A. Einleitung.

Die Ergebnisse der Untersuchungen an *Oenothera*-Bastarden mit einem Viererring legten die Vermutung nahe, daß von den reziproken Translokationen, wahrscheinlich über den Partnerwechsel bei der Paarung der Chromosomen, ein hemmender Einfluß auf die Chiasmenbildung ausgeht, der sich durch eine gegenüber den Bivalenten verminderte relative Häufigkeit der Endchiasmen in den Chromosomenringen anzeigt (CATCHESIDE 1933, OEHLKERS 1935, 1936, JAPHA 1939, HARTE 1954, MARQUARDT 1948). Es ist daher von besonderem Interesse, Formen, die größere Chromosomenringe und Bivalente enthalten, unter dem gleichen Gesichtspunkt zu untersuchen. Der von OEHLKERS (1935) bearbeitete Bastard *Oe. albicans* · ^h*Hookeri* ließ zwar erkennen, daß der Ausfall der Endbindungen hier nicht ganz zufallsgemäß über den Ring verteilt ist, aber dadurch, daß der Ring hier alle 14 Chromosomen umfaßt, war ein Vergleich zwischen Ring- und Bivalentchromosomen nicht möglich. Dieser läßt sich durchführen bei der Komplexkombination *Oe. albicans* · *stringens*, die ein Bivalent und einen Ring von 12 Chromosomen bildet, und als Geschwisterpflanze der bereits behandelten Kombination *Oe. flavens* · *stringens* aus der Kreuzung *Oe. (suaveolens sulfurea* × *strigosa*) als ^a*albicans* · *stringens*, sowie mit gleicher Enden-anordnung aus *Oe. (biennis* Hannover × *strigosa*) als ^b*albicans* · *stringens* erhalten wurde. Aus früheren Versuchen mit diesen Bastarden standen noch Protokolle zur Verfügung, die für eine solche Untersuchung ausgewertet werden konnten. Der Bindungsausfall in diesem Material unter verschiedenen äußeren Bedingungen wurde bereits behandelt (HARTE 1942). Für die Beschreibung des Materials und der experimentellen und zytologischen Methode kann daher auf diese Veröffentlichung verwiesen werden. Im hier gegebenen Zusammenhang ist nur die Verteilung der Endchiasmen und die beiden Chromosomengruppen „Bivalent“ und „Zwölfering“ zu untersuchen.

Tabelle 1. Überblick über das Material.

Kreuzung	Komplexe	Jahr	Endbindungen geschlossen						n	
			14	13	12	11	10	9		
			0	1	2	3	4	5		
Endbindungen offen										
<i>Oe. biennis</i> Hannover \times <i>strigosa</i>	<i>bulbicans · stringens</i>	1940	59	88	97	36	5	1	—	286
		1943	6	12	27	25	20	3	—	93
<i>Oe. suaveolens</i> <i>sullivana</i> \times <i>strigosa</i>	<i>salicicola · stringens</i>	1940	65	99	125	61	25	4	—	379
		total	80	142	186	119	55	14	5	610

B. Experimenteller Teil.

Ergebnisse der Auszählungen.

1. Untersuchung der Homogenität des Materials und Verteilung der Endchiasmen auf Ring und Bivalent.

In Tabelle 1 ist eine Übersicht über das Untersuchungsmaterial gegeben, aus der die Anzahl der Zellen mit verschiedenen Endbindungszahlen zu ersehen ist, die für die Untersuchung zur Verfügung stehen. Aus diesem Material können nicht alle Zellen für alle Punkte der eingehenderen Analyse verwendet werden, da bei einer geringen Anzahl von Zellen zwar der Bindungsausfall eindeutig bestimmt werden konnte, aber durch die Lage in der Zelle sich nicht die genaue Länge der Kettenstücke ermittelten ließ, in die der Zwölfering zerfallen war. Für Zellen mit mehr als 4 ausgefallenen Endbindungen ist in einigen Fällen nicht eindeutig feststellbar, welcher Anteil des Bindungsausfalls im einzelnen den Chromosomenring oder das Bivalent betrifft, nämlich immer dann, wenn die Zelle neben Teilstücken anderer Länge die Konfiguration K 2 + 1 + 1 enthält und kein geschlossenes Bivalent vorhanden ist. Hierdurch ist es bedingt, daß die aus den weiteren Tabellen zu entnehmende Gesamtzahl der Zellen teilweise etwas kleiner ist als in Tabelle 1. Die Anzahl der Zellen in diesen beiden unsicheren Gruppen ist jedoch so klein, daß hierdurch die Ergebnisse nicht beeinflußt werden.

In Tabelle 2 ist dieses Material weiter zerlegt in der Weise, daß die Verteilung der Endbindungen auf Ring und Bivalent in den Zellen mit verschiedener Endbindungszahl und die Unterschiede zwischen den Komplexkombinationen daraus zu ersehen sind. Die Prüfung dieser Zahlen mit Hilfe der χ^2 -Zerlegung ist in Tabelle 3 und 4 gegeben. Da ein Bivalent und ein Ring von 12 Chromosomen vorliegen, ist zu erwarten, daß bei zufallsgemäßer Verteilung der Chiasmen auf diese beiden Chromosomengruppen $\frac{2}{14}$ der Endbindungen auf das Bivalent entfallen und

Tabelle 2. Verteilung des Bindungsausfalls auf Ring- und Bivalentchromosomen.

Die Zahlen geben die Anzahl der ausgefallenen Endbindungen in den eindeutig klassifizierbaren Zellen an.

Endbindungen		<i>salbicans · stringens</i> Bindungsausfall in		<i>salbicans · stringens</i> Bindungsausfall in		Σ Bindungsausfall in	
vor- handen	aus- gefallen	Ring	Bivalent	Ring	Bivalent	Ring	Bivalent
13	1	41	1	96	4	137	5
12	2	118	6	220	28	338	34
11	3	156	18	159	24	315	42
10	4	104	16	85	11	189	27
9	5	42	8	13	2	55	10
	Σ	461	49	573	69	1034	118

$12/14$ auf den Chromosomenring. Für das Gesamtmaterial ergibt sich eine gesicherte Abweichung von diesem Verhältnis, während die Homogenität zwischen den einzelnen Gruppen von Zellen nicht gerade sehr gut ist, aber doch keine gesicherten Differenzen nachweist (Tabelle 3, a).

Eine Aufteilung des Materials ist in 2 Richtungen möglich, einmal in die beiden Bastarde und zum anderen in Gruppen von Zellen mit verschiedenem Bindungsausfall. Die χ^2 -Zerlegung für die Summe der Zeilen und die Summe der Spalten zeigt eine Homogenität zwischen den Kombinationen. Für den Vergleich zwischen Zellgruppen mit verschiedenem Bindungsausfall ist der *P*-Wert sehr klein und viel geringer

Tabelle 3. χ^2 -Zerlegung für das Material der Tabelle 2.

	Vergleichsgruppe	Variationsursache	χ^2	Frei- heits- grade	<i>P</i>
a)	Gesamtmaterial	$\Sigma \chi^2$ Verhältnis 12:2 (für Summe) Homogenität	34,8219 15,3921	1	< 0,001
b)	Vergleich zwischen Zellen mit verschiedenem Bin- dungsausfall (Summe der beiden Kombinationen)	Σ 12:2 Homogenität	23,9576 15,3921 8,5655	9 1 4	0,05—0,02 < 0,001 0,1—0,05
c)	Vergleich zwischen den Kombinationen (Summe der Zellen mit verschie- denem Bindungsausfall)	Σ 12:2 Homogenität	23,9576 15,3921 8,5655	1 1 1	< 0,001 0,01—0,001
d)	innerhalb <i>salbicans · stringens</i>	Σ 12:2 Homogenität	17,8687 9,1423 8,7264	1 1 4	0,01—0,001 0,1—0,05
e)	innerhalb <i>salbicans · stringens</i>	Σ 12:2 Homogenität	16,9532 6,5556 10,3976	1 1 4	0,02—0,01 0,05—0,02

als für das Gesamtmaterial (Tabelle 3, b und c). Dies ist ein Hinweis darauf, daß sich die beiden geprüften Bastarde in der Verteilung des Bindungsausfalls auf Chromosomenring und Bivalente nicht unterscheiden, während zwischen den Zellen verschiedener Endbindungszahl gesicherte Differenzen vorhanden sind.

Zunächst soll die Verteilung auf die Zellen mit verschiedenem Bindungsausfall innerhalb jeder Komplexkombination betrachtet werden (Tabelle 3, d und e). Für die Homogenität ergeben sich in beiden Fällen niedrige Werte für P , wie es auch für das Gesamtmaterial gefunden wurde. Durch die Ausschaltung der etwaigen Differenzen zwischen den Bastarden ist das Material also nicht einheitlicher geworden. Die Abweichung vom Verhältnis 2:12 für Bivalent:Ring ist bei *"albicans · stringens"* sehr gut gesichert, während sie bei *"albicans · stringens"* an der Grenze der Sicherung liegt.

Der Vergleich innerhalb der Gruppen von Zellen mit gleichem Bindungsausfall ergibt überall eine gute Übereinstimmung zwischen den beiden Bastarden (Tabelle 4). Die Verteilung auf Ring und Bivalent weicht dagegen in den Zellen mit 13 Endbindungen gut gesichert von der Erwartung ab, während der P -Wert hierfür mit steigender Anzahl der ausgefallenen Endbindungen ansteigt und in den Zellen mit 3—5 ausgefallenen Endbindungen eine Übereinstimmung mit der Erwartung zustande kommt. Hieraus läßt sich entnehmen, daß im ganzen die Chiasmenbildung im Bivalent stärker ist als in den Ringchromosomen. Der erste Bindungsausfall tritt bevorzugt im Ring auf; auch beim

Tabelle 4. χ^2 -Zerlegung für den Vergleich zwischen den Bastarden bei Zellen mit gleichem Bindungsausfall. (Material der Tabelle 2.)

Vergleichsgruppe	Variationsursache	χ^2	Freiheitsgrade	P
Zellen mit 1 ausgefallenen Bindung	Σ	13,5177		
	12:2	13,4550	1	< 0,001
	Homogenität	0,0627	1	0,9—0,8
Zellen mit 2 ausgefallenen Bindungen	Σ	10,8258		
	12:2	8,0141	1	0,01—0,001
	Homogenität	2,8117	1	0,1—0,05
Zellen mit 3 ausgefallenen Bindungen	Σ	2,4283		
	12:2	1,8529	1	0,2—0,1
	Homogenität	0,5756	1	0,5—0,3
Zellen mit 4 ausgefallenen Bindungen	Σ	1,4718		
	12:2	0,5743	1	0,5—0,3
	Homogenität	0,8975	1	0,5—0,3
Zellen mit 5 ausgefallenen Bindungen	Σ	0,9590		
	12:2	0,0613	1	0,9—0,8
	Homogenität	0,8977	1	0,5—0,3

2. Bindungsausfall ist dieses Verhältnis noch gewahrt. Wenn dagegen in der Zelle nur sehr wenige Endchiasmen vorhanden sind, werden diese ziemlich gleichmäßig auf die Ring- und Bivalentchromosomen verteilt. Um dies zu erreichen, müssen aber im Ring einige Endbindungen mit größerer Konstanz auftreten als im Bivalent und dadurch den erhöhten Ausfall an anderen Chromosomenarmen wieder ausgleichen.

2. Verteilung der Endchiasmen innerhalb des Ringes von 12 Chromosomen.

Diese allgemeine Feststellung genügt aber nicht, sondern es fragt sich weiter, ob im Ring alle Endbindungen gleichwertig sind und sich bei der beobachteten Erscheinung eine Interferenz über das Zentromer und die Stelle des Partnerwechsels hin bemerkbar macht oder ob sich an bestimmten Stellen bevorzugt Chiasmen bilden, während andere regelmäßig durch besonders geringe Chiasmenhäufigkeit ausgezeichnet sind. Um diesen Punkt zu untersuchen, ist zunächst eine Berechnung notwendig darüber, in welchem Verhältnis die einzelnen möglichen Konfigurationen bei gegebenem Bindungsausfall auftreten können. In einem Zwölfferring bestehen für die Lage des ersten Bindungsausfalls 12 Möglichkeiten, die morphologisch infolge der gleichen Größe der Chromosomen nicht zu unterscheiden sind. Eine Bevorzugung bestimmter Endbindungen kann also in den Zellen mit 11 Endchiasmen im Ring nicht erkannt werden.

Die Zahl der möglichen Fälle in den Zellen mit geringerer Endbindungszahl läßt sich nach der bei HARTE (1953) gegebenen Methode berechnen als die Anzahl der Permutationen von 12 Elementen, wobei im Fall von 2 ausgefallenen Endbindungen je 2 und 10 Elemente gleich sind. Für den 2. Bindungsausfall in den Zellen mit 10 Endbindungen im Ring gibt es von jeder Ausgangslage aus noch 11 Möglichkeiten, also im ganzen 12×11 Fälle, von denen je 2 in der Lage der Endbindungen identisch sind. Es bestehen daher $\frac{12!}{2! \cdot 10!} = 66$ Möglichkeiten für die Lage von 2 ausgefallenen Endbindungen. Hiervon ist jedoch nur eine geringe Anzahl morphologisch verschieden, nämlich diejenigen, die eine verschiedene Länge der beiden Chromosomenketten ergeben, während alle Möglichkeiten, die zu Chromosomenketten gleicher Länge führen, nicht unterscheidbar sind. Die 6 verschiedenen Konfigurationen sind in Tabelle 5 gegeben, zusammen mit der Häufigkeit, mit der sie beobachtet wurden und der Anzahl der Möglichkeiten, die für jede Konfiguration gegeben ist. Die Übereinstimmung mit der Erwartung ist nicht besonders gut, während die Homogenität zwischen den beiden Komplexkombinationen vorhanden ist. Die Betrachtung der Abweichungen zeigt, daß nicht alle Klassen gleichmäßig zum χ^2 beitragen, sondern einige weisen Werte auf, die fast der Erwartung

Tabelle 5. Verteilung des Bindungsausfalls in den Chromosomenringen mit 10 Endbindungen.

Komplexkombination	Konfiguration						Σ
	11 + 1	10 + 2	9 + 3	8 + 4	7 + 5	6 + 6	
	Anzahl der Möglichkeiten						
	12	12	12	12	12	6	
<i>salbicans · stringens</i> . . .	4	15	13	6	15	6	59
<i>bulbicans · stringens</i> . . .	16	28	23	25	9	13	114
Σ	20	43	36	31	24	19	173
Erwartung	31,45	31,45	31,45	31,45	31,45	15,75	
Abweichung	—	+	+	(—)	—	+	

Homogenität zwischen den Bastarden $P = 0,5 - 0,3$.Übereinstimmung mit der Erwartung $P = 0,05 - 0,02$.

entsprechen, während bei anderen größere +- und --Abweichungen vorliegen. Dies läßt vermuten, daß keine völlig zufallsgemäße Verteilung vorliegt.

Für den Ausfall von 3 Endbindungen im Ring gibt es entsprechend $\frac{12!}{3! \cdot 9!} = 220$ mögliche Fälle, die sich auf nur 12 verschiedene Konfigurationen verteilen, die in Tabelle 6 dargestellt sind. Da beide Komplexkombinationen übereinstimmen, soweit es die Beobachtungszahlen erkennen lassen, sind hier nur die zusammengefaßten Zahlen angegeben. Die Abweichungen von der Erwartung sind hier nicht gesichert, doch die Übereinstimmung mit der Erwartung ist nicht sehr gut. Es fragt sich aber, ob die „Erwartungswerte“ tatsächlich berechtigt sind. In den Zellen mit 2 ausgefallenen Endbindungen im Ring fand sich das größte Defizit in der Klasse K 11 + 1, der größte Überschuß bei K 10 + 2. Unter der zunächst hypothetischen Annahme, daß diese beiden Differenzen gegenüber der Erwartung real sind, die übrigen geringeren

Tabelle 6. Verteilung des Bindungsausfalls in den Chromosomenringen mit 9 Endbindungen.

	Konfiguration												Σ
	10 + 1 + 1	9 + 2 + 1	8 + 3 + 1	8 + 2 + 2	7 + 4 + 1	7 + 3 + 2	6 + 5 + 1	6 + 4 + 2	6 + 3 + 3	5 + 5 + 2	5 + 4 + 3	4 + 4 + 4	
Anzahl der Möglichkeiten	12	24	24	12	24	24	24	24	12	12	24	4	220
Häufigkeit													
beobachtet	5	8	9	6	5	14	7	10	9	4	19	3	99
erwartet	5,4	10,8	10,8	5,4	10,8	10,8	10,8	10,8	5,4	5,4	10,8	1,8	99
Abweichung													
beobachtet	(+)	—	—	(+)	—	+	—	(—)	+	(—)	+	(+)	
erwartet	0	0	—	+	—	+	—	+	+	+	+	0	

Tabelle 7. Verteilung des Bindungsausfalls in den Chromosomenringen mit 8 Endbindungen.

	Konfiguration															Σ
	9+1+1+1	8+2+1+1	7+3+1+1	7+2+2+1	6+3+1+1	6+3+2+1	6+2+2+2	5+3+1+1	5+3+2+1	5+3+3+1	5+2+2+2	4+4+3+1	4+4+2+2	4+3+3+2	3+3+3+3	
Anzahl der Möglichkeiten .	12	36	36	36	36	72	12	18	72	36	36	36	36	36	3	
Beobachtete Häufigkeit . .	1	3	2	5	—	7	1	—	6	2	4	2	2	5	—	40

Abweichungen dagegen zufällige Schwankungen darstellen, ist für die Zellen mit 3 ausgefallenen und 9 vorhandenen Endbindungen zu erwarten, daß die Konfigurationen, die aus $K\ 11+1$ durch das Fehlen eines weiteren Endchiasmas hervorgehen, in zu geringer Häufigkeit, diejenigen aus $K\ 10+2$ da gegen zu oft auftreten. Für $K\ 10+1+1$ und $K\ 9+2+1$ heben sich diese in positiver und negativer Richtung wirkenden Einflüsse auf, $K\ 4+4+4$ kann aus keiner von beiden hervorgehen. Für die übrigen Konfigurationen ist in der Zeile „Abweichung, erwartet“ der Tabelle 6 durch die Vorzeichen angegeben, in welcher Richtung die Abweichungen von einer Zufallsverteilung liegen sollten, wenn tatsächlich die Verteilung des Bindungsausfalls für die ersten 2 Chromosomenarme nicht völlig zufallsgemäß ist. Es zeigt sich, daß in allen Klassen eine Übereinstimmung zu finden ist zwischen der erwarteten und beobachteten Richtung der Abweichung, mit 2 Ausnahmen, bei denen die Abweichungen zur „falschen“ Richtung aber nur eine Zelle betragen, also sehr gering sind.

In Zellen, deren Zwölfering 4 ausgefallene Bindungen aufweist, gibt es $12! = 495$ Möglichkeiten und 15 verschiedene Konfigurationen. In dieser Gruppe ist die Anzahl der Zellen zu gering, um noch eine statistische Auswertung zuzulassen (Tabelle 7), aber so weit ersichtlich, treten die einzelnen Konfigurationen etwa im erwarteten Verhältnis auf.

Tabelle 8. Übersicht über die Anzahl der unterscheidbaren Konfigurationen und die dafür vorhandenen Möglichkeiten in Zellen mit verschiedener Endchiasmenzahl.

Endbindungen	Möglichkeiten	Unterscheidbare Konfigurationen
vorhanden	ausgefallen	
12	0	1
11	1	12
10	2	66
9	3	220
8	4	495
7	5	792
6	6	924
5	7	792
4	8	495
3	9	220
2	10	66
1	11	12
0	12	1

Tabelle 9. Zusammenstellung der Konfigurationen in Zellen mit 7—2 Endbindungen im Zwölfering und der auf sie entfallenden Anzahl von möglichen Anordnungen der Chromosomen.

Endbindungen im Zwölfering		Konfigurationen	Anzahl der Möglichkeiten	
vorhanden	ausgefallen		für jede Konfiguration	insgesamt
7	5	8 1 1 1 1 7 2 1 1 1 6 3 1 1 1 6 2 2 1 1 5 4 1 1 1 5 3 2 1 1 5 2 2 2 1 4 4 2 1 1 4 3 3 1 1 4 3 2 2 1 4 2 2 2 2 3 3 3 2 1 3 3 2 2 2	12 48 48 72 48 144 48 72 72 144 12 48 24	792
6	6	7 1 1 1 1 1 6 2 1 1 1 1 5 3 1 1 1 1 5 2 2 1 1 1 4 4 1 1 1 1 4 3 2 1 1 1 4 2 2 2 1 1 3 3 3 1 1 1 3 3 2 2 1 1 3 2 2 2 2 1 2 2 2 2 2 2	12 60 60 120 30 240 120 40 180 60 2	924
5	7	6 1 1 1 1 1 1 5 2 1 1 1 1 1 4 3 1 1 1 1 1 4 2 2 1 1 1 1 3 3 2 1 1 1 1 3 2 2 2 1 1 1 2 2 2 2 2 1 1	12 72 72 180 180 240 36	792
4	8	5 1 1 1 1 1 1 1 4 2 1 1 1 1 1 1 3 3 1 1 1 1 1 1 3 2 2 1 1 1 1 1 2 2 2 2 1 1 1 1	12 84 42 252 105	495
3	9	K 4 + 8 Univalente K 3 2 + 7 Univalente K 2 2 2 + 6 Univalente	12 96 112	220
2	10	K 3 + 9 Univalente K 2 2 + 8 Univalente	12 54	66

In Tabelle 8 ist eine Zusammenstellung gegeben für die Anzahl der Möglichkeiten, die bei gegebener Endbindungsanzahl bestehen, und die Anzahl der unterscheidbaren Konfigurationen, auf die sich diese Mög-

lichkeiten verteilen. Die Anzahl der möglichen Anordnungen der Endchiasmen ist für jede einzelne Gruppe sehr groß; so gibt es z. B. 924 Möglichkeiten, um zwischen den 12 Chromosomen des Ringes bei festgelegter Reihenfolge der einzelnen Chromosomen 6 Endchiasmen anzugeordnen. Diese Möglichkeiten verteilen sich aber auf nur 11 unterscheidbare Konfigurationen, so daß sich allein aus dieser einen Gruppe bereits die Unmöglichkeit beweisen läßt, eine Bevorzugung oder Benachteiligung bestimmter Chromosomenenden bei der Bildung der Endchiasmen in den Zellen mit erhöhtem Bindungsausfall zu erkennen, während sich eine Bevorzugung bestimmter Konfigurationen als Folge einer Interferenzwirkung über das Zentromer besonders deutlich bemerkbar machen müßte. Die Konfigurationen für Zellen mit 7 oder weniger Endbindungen sind zusammen mit der Anzahl der auf sie entfallenden Möglichkeiten in Tabelle 9 aufgeführt.

3. Verteilung des Bindungsausfalls im Bivalent.

Als nächstes ist der Bindungsausfall im Bivalent zu untersuchen. Hier sind 3 Konfigurationen möglich, nämlich ein geschlossenes Bivalent (R 2), eine offene Kette von 2 Chromosomen (K 2) und 2 Univalente (K 1 + 1). Der durchschnittliche Bindungsausfall im Bivalent ist 0,2013. Daraus ergibt sich die Wahrscheinlichkeit für eine Bindung, im vorliegenden Fall auszufallen, als 0,1006, für die Chiasmenbildung in einem Chromosomenarm entsprechend als 0,8994. Hieraus läßt sich berechnen, mit welcher Wahrscheinlichkeit das Bivalent in den 3 möglichen Konfigurationen auftreten sollte. Die Übereinstimmung ist gut mit $P = 0,7$ (Tabelle 10). Es kann daher angenommen werden, daß die Chiasmen auf beide Arme der Bivalentchromosomen gleichmäßig verteilt sind und keine Interferenz über das Zentromer besteht. Daß gleichzeitig das Bivalent als Ganzes eine größere Chiasmenhäufigkeit aufweist als die Ringchromosomen, stimmt mit den Befunden an den Viererringbastarden überein, bei denen das auch in *flavens · stringens* vorhandene Bivalent 1 · 4 zu denen gehört, die eine hohe Chiasmenwahrscheinlichkeit besitzen.

Tabelle 10. Verteilung des Bindungsausfalls im Bivalent.

Komplexkombination	Konfiguration			Σ	M	D/m_D
	R 2	K 2	K 1 + 1			
<i>salbicans · stringens</i> . . .	183	39	6	228	0,22	
<i>salbicans · stringens</i> . . .	300	67	1	377	0,18	
Σ	492	106	7	605	0,2013	
Erwartete relative Häufigkeit	0,81	0,18	0,01			

$$\chi^2 = 0,7106; n = 2; P = 0,7.$$

4. Die Korrelation zwischen der Chiasmenbildung im Zwölfering und im Bivalent.

Die letzte Prüfung hat sich mit der interchromosomalen Interferenz zu befassen und zu untersuchen, inwieweit der Bindungsausfall bzw. die Chiasmenbildung in Ring- und Bivalentchromosomen voneinander abhängig ist. In Tabelle 11 ist die Korrelation zwischen der Endchiasmenzahl in beiden Chromosomengruppen dargestellt. Beide Komplexkombinationen verhalten sich gleich, so daß in die Tabelle nur die zusammengefaßten Werte aufgenommen wurden. Die Zellen mit einer ausgefallenen Bindung im Ring weisen eine gesicherte Erhöhung des Bindungsausfalls im Bivalent auf gegenüber den Zellen mit einem geschlossenen Zwölfering, während der Mittelwert der Endchiasmen je Zelle für das Bivalent bei weiter steigendem Ausfall im Ring ziemlich

Tabelle 11. Korrelation zwischen dem Bindungsausfall in Ring und Bivalent.

Endbindungen im Ring		Endbindungen im Bivalent vorhanden			Σ der Zellen	M	σ	D/mD	P
vor-handern	aus-gefallen	2	1	0					
		Endbindungen im Bivalent ausgefallen							
		0	1	2					
12	0	89	5	—	94	0,053	0,231	3,73	<0,001
11	1	137	34	2	173	0,219	0,493		
10	2	152	38	4	195	0,236	0,526	0,32	0,7
9	3	79	19	1	99	0,212	0,482		
8	4	31	8	—	39	0,205	0,453		
7	5	4	2	—	6				
Σ der Zellen		492	106	7	605+5				
M		1,671	1,972						
σ		2,04	2,25						
D/mD		$\overline{1,35}$							
P		0,2—0,1							

Das Zeichen \swarrow bedeutet, daß die Konfiguration dieser Zellen keine eindeutige Zuordnung zu einer der beiden Klassen ermöglicht.

gleich bleibt. Mit steigendem Endbindungsausfall im Bivalent steigt auch umgekehrt der Ausfall im Ring, jedoch ist hier die Differenz nicht gesichert. Die gleichzeitige Vergrößerung der Streuung deutet aber darauf hin, daß die Erhöhung real ist, auch wenn sich dies am vorliegenden Material nicht beweisen läßt. Da der Anstieg eindeutig nicht linear ist, ist eine Berechnung der Regressionslinien und des Korrelationskoeffizienten nicht angebracht. Nach diesen Befunden besteht

eine deutliche positive Beziehung zwischen dem Bindungsausfall in den beiden Chromosomengruppen, d. h. eine negative interchromosomale Interferenz, wie sie auch bei den Bastarden mit einem Viererring gefunden wurde (HARTE 1953 b).

C. Diskussion.

Die Untersuchung des Bindungsausfalls in 2 Komplexkombinationen von *Oenothera* mit einem Ring aus 12 Chromosomen und einem Bivalent ergab, daß die Endbindungen nicht gleichwertig sind, sondern daß im Ring mindestens 2 Bindungen leichter ausfallen als die übrigen. Als Erklärung hierfür scheidet eine Interferenz über das Zentromer und die Translokationspunkte aus. Es muß vielmehr angenommen werden, daß ebenso wie bei den Vierringen bestimmte Chromosomenarme eine besonders geringe Chiasmenhäufigkeit aufweisen, während andere sehr konstante Endbindungen, d. h. eine größere Chiasmenhäufigkeit besitzen. Beide Arme des Bivalents sind gleichwertig, eine Interferenzwirkung ist nicht festzustellen; der Bindungsausfall verteilt sich hier zufällig. Im Zwölfring liegt keine Zufallsverteilung der Chiasmen vor. Bei einer Veränderung der Chiasmenhäufigkeit betrifft diese alle Chromosomenteile, so daß sich eine Verminderung der Chiasmenwahrscheinlichkeit gleichzeitig sowohl im Ring wie im Bivalent bemerkbar macht und zu einem erhöhten Endbindungsausfall führt. Eine gleichartige interchromosomale Interferenz wurde auch bei den weniger stark verketteten Formen festgestellt. Die großen Chromosomenringe folgen also in ihrem Verhalten bei der Chiasmenbildung den gleichen Gesetzmäßigkeiten, wie sie für wenig verkettete Formen gefunden wurden (HARTE 1953, 1954). Von OEHLKERS (1935) wurde bereits früher die Verteilung der Endbindungen in einem großen Chromosomenring untersucht. Die von ihm gefundene Bevorzugung gerader Teilstücke beim Zerfall des Chromosomenringes durch Bindungsausfall konnte hier nicht festgestellt werden, so daß dies eine Eigentümlichkeit des damals untersuchten Bastards *Oe. biennis* \times *Hookeri*, Komplexkombination *Oe. albicans*¹ *Hookeri*, sein muß, die nicht allgemein für die großen Chromosomenringe gilt. Die Schlußfolgerungen über die Verteilung der Endchiasmen auf Ring- und Bivalentchromosomen sowie über das Auftreten einer positiven Korrelation zwischen den Endbindungswerten der beiden Chromosomengruppen stimmen mit den Befunden von CATCHESIDE (1933) an anderen Formen mit großen Chromosomenringen überein. Die Differenz mit den Befunden dieses Autors in bezug auf die Zufälligkeit der Verteilung der Chiasmen im Ring beruht darauf, daß bei der hier angewendeten Zerlegung des Materials auch die kleineren Unterschiede erfaßt werden, die bei einer größeren statistischen Methode nicht erkannt werden können.

Bei Versuchen über die Beeinflussung des crossing-over bei *Oenothera* ist daher bei Genen, die in den großen Ringen lokalisiert sind, ebenso wie bei den weniger verketteten Formen zu erwarten, daß einmal das crossing-over in den einzelnen Chromosomenteilen sehr verschieden häufig sein wird in Abhängigkeit von der Lage in einem Chromosomenarm, der eine hohe oder geringe Chiasmenhäufigkeit aufweist, und zudem bei einer Veränderung die Reaktion der einzelnen Strecken sehr verschieden stark sein wird.

Zusammenfassung.

1. Bei 2 *Oenothera*-Bastarden der Konstitution *albicans-stringens* mit der Konfiguration Zwölfering + Bivalent wurde die Verteilung der Endchiasmen auf die beiden Chromosomengruppen untersucht.
2. Im Ganzen ist die Endchiasmenhäufigkeit im Ring geringer als im Bivalent.
3. In Zellen mit geringerer Endbindungszahl ist die Verteilung auf Chromosomenring und Bivalent etwa der Erwartung entsprechend.
4. Trotzdem liegt keine Zufallsverteilung vor und es ließ sich eine Rangordnung aufstellen, nach der die Chromosomenarme vom Bindungsausfall betroffen werden; diese ist reziprok der Rangordnung für die Chiasmenbildung.
5. Im Ring sind 2 bestimmte, nicht direkt benachbarte Chromosomenarme bei der Chiasmenbildung so benachteiligt, daß dort am leichtesten Bindungsausfall eintritt und so eine Bevorzugung der Konfiguration K 10 + 2 in den Zellen mit 10 Endbindungen im Ring entsteht.
6. Zwischen diesen beiden Stellen mit einer gegenüber dem Durchschnitt herabgesetzten Chiasmenhäufigkeit liegt ein Chromosomenarm, der sehr regelmäßig Chiasmen bildet, so daß Bindungsausfall in direkt benachbarten Chromosomenenden (Konfiguration K 11 + 1) zu selten auftritt.
7. Diese Bevorzugung, bzw. Benachteiligung, bei der Chiasmenbildung muß sehr stark sein, da ihre Folgen trotz der vielen Möglichkeiten für jede Konfiguration sehr deutlich in Erscheinung treten.
8. Im Zwölfering müssen noch einige andere Chromosomenenden sehr regelmäßig Chiasmen bilden.
9. Das Bivalent ist bei der Chiasmenverteilung zwischen die beiden Extreme der Ringchromosomen einzuordnen. Beide Arme der Bivalent-chromosomen sind dabei gleichwertig.
10. Die im zytologischen Bild gleichartigen Chromosomenenden des Ringes sind also in bezug auf die Chiasmenbildung sehr verschiedenwertig.

11. Das Bestehen einer Interferenz über das Zentromer konnte für Ring- und Bivalentchromosomen ausgeschlossen werden.

12. Es besteht dagegen eine negative interchromosomale Interferenz in der Weise, daß bei einer Erhöhung des Bindungsausfalls dieser bei Wahrung der Rangordnung sowohl Ring- wie auch Bivalentchromosomen betrifft.

13. Der Zwölferring von *albicans · stringens* folgt somit bei der Chiasmenbildung den gleichen Gesetzmäßigkeiten wie die Viererringe.

Literatur.

CATCHESIDE, D. G.: Chromosome catenation in some F_1 *Oenothera* hybrids. J. Genet. 27, 45—69 (1933). — HARTE, C.: Meiosis und crossing-over. Weitere Beiträge zur Zytogenetik von *Oenothera*. Z. Bot. 38, 65—137 (1942). — Untersuchungen über die Variabilität der Chiasmenbildung bei *Oenothera*-Bastarden. I. Die Häufigkeit der Endchiasmen bei Formen mit einem Viererring. Chromosoma 6, 91—114 (1953). — II. Die Verteilung der Endchiasmen auf Ring- und Bivalentchromosomen in Formen mit einem Viererring. Chromosoma 6, 237—276 (1954). — JAPHA, B.: Die Meiosis von *Oenothera*. II. Z. Bot. 34, 321—369 (1939). — MARQUARDT, H.: Das Verhalten röntgeninduzierter Viererringe mit großen interstitiellen Segmenten bei *Oenothera Hookeri*. Z. Vererbungslehre 82, 415—429 (1948). — OEHLKERS, F.: Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis. I. Z. Bot. 29, 1—52 (1935). — Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis. III. Z. Bot. 30, 253—276 (1936).

Prof. Dr. CORNELIA HARTE,
Entwicklungsphysiolog. Institut der Universität, Köln-Riehl,
Amsterdamer Str. 36.

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung,
Erwin-Baur-Institut, Voldagsen.

ÜBER MEIOTISCHE FRAGMENT- UND BRÜCKENBILDUNG
DER BASTARDE *SECALE* UND *TRITICUM* × *AGROPYRUM*.

Von
HORST GAUL.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 29. November 1953.)

A. Einleitung.

Anlässlich der genomanalytischen Untersuchungen bei Bastarden von *Triticum aestivum*, *durum* und *dicoccum* × *Agropyrum intermedium* sowie *Secale cereale* × *A. intermedium* (GAUL 1953a) wurde in der Meiose der F_1 -Bastarde eine Reihe von spontan auftretenden Unregelmäßigkeiten festgestellt, von denen die starken Fragment- und Brückenbildungen vielleicht die interessantesten sind. Da in absehbarer Zeit eine gründliche Analyse dieser Anomalien nicht vorgesehen ist, sollen im folgenden die wichtigsten Beobachtungen kurz mitgeteilt und interpretiert werden, auch wenn sie bisher nur am Rande verfolgt werden konnten.

Die bei *S. cereale* × *A. intermedium* und bei 4n *Triticum* × *A. intermedium* in der Anaphase I und II beobachteten Fragmente und Brücken können zumindest zum größten Teil kaum auf der Grundlage heterozygoter Inversionspaarung erklärt werden. Mit erheblicher Wahrscheinlichkeit sind sie vielmehr das Ergebnis spontaner Chromosomenbrüche und der gegenseitigen Fusion so entstandener Bruchflächen.

PLOTNIKOWA (1932) hatte schon früh Beobachtungen über spontane Brückenbildungen und Fragmentierungen in Wurzelspitzen von Weizen-Roggenbastarden mitgeteilt. Besonders seit dieser Zeit sind öfters Beobachtungen über ähnliche Erscheinungen in somatischen Mitosen und gelegentlich auch in der Meiose publiziert worden. Solche Meiosis-Beobachtungen liegen aus jüngster Zeit besonders von WALTERS (1950, dort auch weitere Literatur) und MARQUARDT (1952) vor.

Die in der folgenden Mitteilung zu beschreibenden Brücken- und Fragmentbildungen unterscheiden sich jedoch von der Mehrheit der bisher beschriebenen dadurch, daß sie gemeinsam mit einer Reihe anderer Anomalien auftreten, die deshalb in den folgenden Ausführungen ebenfalls näher dargestellt werden. Vor allem sind sie verbunden mit Verklebungen und Verklumpungen der Chromosomen, mit Spiralisationsdefekten, mit zum Teil extremem Mangel an Synchronisation der Pollen-

mutterzellen einer Anthere und schließlich auch mit dem Degenerieren der Antheren vor und während der Meiosis. Gerade das gemeinsame Auftreten dieser Erscheinungen mit Chromosomenmutationen schafft das Bild einer auffallenden Ähnlichkeit mit den Wirkungen von künstlich mutagenen Agentien (z. B. Röntgenstrahlen, Chemikalien). Daß die Faktoren, welche die Ursache dieser spontanen Erscheinungen bilden, keine relativ spezifische, sondern solch eine ausgeprägte Komplexwirkung zeigen, läßt vielleicht die folgenden Ausführungen trotz ihrer nicht sehr eingehenden Analyse von Bedeutung erscheinen.

Allgemein besteht der Eindruck, daß die Meiosis bei *Secale × A. intermedium* am stärksten von dem „normalen“ Verlauf abweicht und bei *T. aestivum × A. intermedium* am wenigsten. Aber solche allgemeinen Feststellungen haben nur begrenzten Wert, da die einzelnen Bastardpflanzen in jeder Kombination erhebliche Unterschiede aufweisen. Während jedoch bei *S. cereale × A. intermedium* alle untersuchten Bastardpflanzen stärkere Abweichungen im obigen Sinne vom normalen Meiosisablauf zeigten, fanden sich bei *Triticum × A. intermedium* die meisten Pflanzen mit (in dieser Hinsicht) relativ normalem Verlauf. Es muß in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen werden, daß sich die verschiedenen Bastardpflanzen innerhalb der Kreuzungskombinationen genetisch und auch morphologisch unterscheiden, da sowohl *Agropyrum* als auch *Secale* als Fremdbestäuber heterozygot sind.

Angewandt wurde die Karmin-Essig-Quetschmethode; nähere Angaben finden sich bei GAUL (1953a).

B. Beobachtungen.

1. *Secale cereale × Agropyrum intermedium* ($2n = 28$).

In der Metaphase I dieser Bastarde wurden durchschnittlich rund 7_{II} einschließlich einiger Multivalente beobachtet, die als Autosyndese von *A. intermedium* angesehen werden (GAUL 1953a). Etwa die knappe Hälfte aller Chromosomen bleibt in der Metaphase I univalent und wird so entweder (1) zufällig auf die Pole verteilt oder (2) diese Univalente teilen sich bereits in der ersten Reifeteilung mitotisch, um dann mit ihren Tochterchromosomen ordnungsmäßig zu den beiden entgegengesetzten Polen zu wandern (vgl. GAUL 1953a, Abb. 8).

Degenerieren von Pollenmutterzellen, Künnerantheren. Nicht selten stagniert bei den PMZ die Entwicklung, sie degenerieren. Insbesondere können wohl Chromatinschleier und -gerinnsel, oft auch klecksartige Gebilde, die zum Teil fädig ausgezogen sind, als solch eine Zellauflösung angesehen werden. Auch als Folge von Totalfragmentation der Chromosomen findet wahrscheinlich eine Kernauflösung statt. Soweit die bisherigen Beobachtungen reichen, kann dieses „Hängenbleiben“ der PMZ von der frühen Prophase an bis zu den Pollenkörnern stattfinden.

Schließlich gibt es alle Übergänge bis zu solchen Antheren, bei denen das Archespor schon vor dem Eintritt in die Meiosis degeneriert. Diese ganze Erscheinung hat vermutlich ihre makroskopische Parallele in den häufig auftretenden Stummelantheren, die auch schon wiederholt bei anderen Objekten gefunden wurden (z.B. OEHLKERS 1930, PETO 1934, STEBBINS und WALTERS 1949). Bei 2 Pflanzen waren sogar mit dem Auge überhaupt keine Staubgefäß sichtbar. Die Antherenlänge, bei der die M_I durchschritten wurde, variiert von etwa 2,0—4,8 mm bei verschiedenen Pflanzen. Meist sind die Schwankungen dieser Länge bei unterschiedlichen Ähren einer Pflanze nur 0,5—1,0 mm. Aber zuweilen haben die später gebildeten Ähren, obwohl sie sich in der Größe nicht oder kaum von den erst gebildeten unterscheiden, nur noch Kümmerantheren. Einige Pflanzen bildeten von Anfang an nur degenerierte Staubgefäß aus.

Zygomixis. Zygomixis und/oder verwandte Erscheinungen kamen häufig vor (McCLINTOCK 1929; KATTERMANN 1933, 1934, 1937, 1938a, b; KIHARA und LILIENFELD 1934; PETO 1934; YAMASHITA 1937; DARLINGTON 1937, S. 65; LEVAN 1941; MÜNTZING und PRAKKEN 1941; JOHANSSON 1944 u.a.). Im Leptotän und Pachytän wurden nicht selten bis zu 4—5 oder auch noch mehr Chromatinfäden außerhalb des Kernes beobachtet, die oft Kleinkerne bildeten. Vermutlich stellen sie Kernaustreibungen dar und zeigen eine gewisse Ähnlichkeit mit den von McCLINTOCK beim triploiden Mais gefundenen Verhältnissen. Eigentliche Kernübertritte oder dergleichen wurden nicht beobachtet, aber es wurde auch nicht danach gesucht. Indessen kamen in der M_I syndiploide (vgl. Abb. 5), hyper- und hypoploide Zellen vor, die z.B. an KATTERMANNS Bildern von Weizen-Roggenbastarden erinnerten. In einem Präparat wurden große Synzytien gefunden, ähnlich, wie sie z.B. von LEVAN für haploides *Phleum pratense* beschrieben worden sind. In diesen Plasmoiden fanden sich einige hundert Chromosomen, fast nur als Bivalente oder als Univalente.

Synchronisation. Eine durchgehende Erscheinung (aber auch graduell recht unterschiedlich ausgeprägt) ist der Mangel an Synchronisation. Im Extrem wurden in einer Anthere Stadien vom Pachytän bis zu Tetradsen gefunden. Nicht selten findet man Pachytän und M_I in einer Anthere.

Verklebungen und Deformierungen von Chromosomen. Ausreichende Prophasenuntersuchungen wurden nicht unternommen. In der Metaphase I fallen die stets mehr oder weniger stark verklebten (sticky) Chromosomen auf. Diese Verklebungen gehen nicht selten bis zur totalen Verklumpung aller Chromosomen (vgl. Abb. 3). Mit diesem vermutlichen Nukleinsäureüberschuß verbunden ist fast immer eine Deformierung der Chromosomen. Sie sind kürzer und dicker und gelegentlich sogar

beinahe kugelförmig. Diese Verkürzung und gleichzeitige Verdickung der Chromosomen kann vielleicht als Überspiralisierung angesehen werden bei gleichzeitigem Nukleinsäureüberschüß. Solche im Extrem zu nahezu sphärischen Chromatinkörpern deformierten Chromosomen haben große Ähnlichkeit mit den von LILJEFORS (1936) bei einem ähnlichen Bastard, *T. turgidum* × *S. cereale* gefundenen. Übrigens erlaubten Präparate bzw. Zellen mit derartigen Chromosomen keine Unterscheidung von Bi-, Multi- und Univalenten.

Klebrige Chromosomen sind bei Gräsern keine Seltenheit. Sie treten gelegentlich offenbar als Folge gewisser physiologischer Bedingungen bei der Fixierung auf. Die bei *S. cereale* × *A. intermedium* gefundenen Erscheinungen sind aber so häufig und extrem in ihrer Ausprägung, daß sie als recht ungewöhnlich betrachtet werden müssen. In einem Zeitraum von 6 Wochen wurden von zahlreichen Bastardpflanzen (9 davon wurden genauer analysiert) unter den verschiedensten Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnissen viele Fixierungen gesammelt, von denen nahezu 100 durchgesehen wurden. Stets waren entweder die Chromosomen aller Metaphasen des ganzen Präparates oder eines erheblichen Teiles der Zellen mehr oder weniger klebrig. Aber es gab deutliche Unterschiede von Pflanze zu Pflanze bzw. Fixierung zu Fixierung.

Merkwürdig ist, daß diese vermutliche Nukleinsäure-Überladung und Superspiralisierung der Chromosomen mit einer gegensinnigen Erscheinung verbunden sein kann. Häufig kommen nämlich nicht oder nur schwach gefärbte Einschnürungen stärker kontrahierter Chromosomen vor (vgl. GAUL 1953a, Abb. 9), die als Nukleinsäure-„starvation“ ge deutet werden können¹. Auch werden vermutlich die Schrumpfarme der Univalente (s. GAUL 1953a, Abb. 8: Laggards, die in der Teilung begriffen sind) durch Nukleinsäuremangel zu erklären sein (vgl. Abb. 4: A₁ ohne Schrumpfarme von verzögerten Chromosomen, die sich teilen).

Fragment- und Brückenbildung. Umfang und Stärke der spontanen Fragmentierungen sind besonders eindrucksvoll. Fragmente (freie und mit dem Ausgangschromosom verbundene) wurden in folgenden Stadien gesehen: Diplotän, Diakinese, Metaphase I, Anaphase I (GAUL 1953a, Abb. 8, Mitte), Interphase (Abb. 2) und Anaphase II (Abb. 1). Es finden sich erhebliche Unterschiede, (1) von Pflanze zu Pflanze bzw. Fixierung zu Fixierung und (2) innerhalb eines Präparates von Zelle zu Zelle. An gefangen bei schwächerer Fragmentierung gab es alle Übergänge (Abb. 1) zu sehr starker Fragmentierung und es fanden sich Präparate, in denen ein kleiner und auch der größte Teil der PMZ in M₁ totale Fragmentation (vgl. Abb. 9) in zum Teil kleine und kleinste Bruchstücke

¹ Herrn Dr. DARLINGTON bin ich für diese briefliche Interpretation zu Dank verbunden.

zeigte. Auch in der Interphase wurden oft Fragmente beobachtet, wie Abb. 2 zeigt, die von einer Fixierung mit weniger extremen Verhältnissen stammt.

Bei einer Pflanze wurden Auszählungen über den Umfang der Fragmentbildung in den beiden meiotischen Anaphasen durchgeführt (Tabelle 1). Es wurden nur freie Fragmente gezählt. Deshalb kommen für die absolute Anzahl noch zahlreiche Fragmente hinzu, die mit den Chromosomen verbunden sind. Aber auch allein in bezug auf die freien

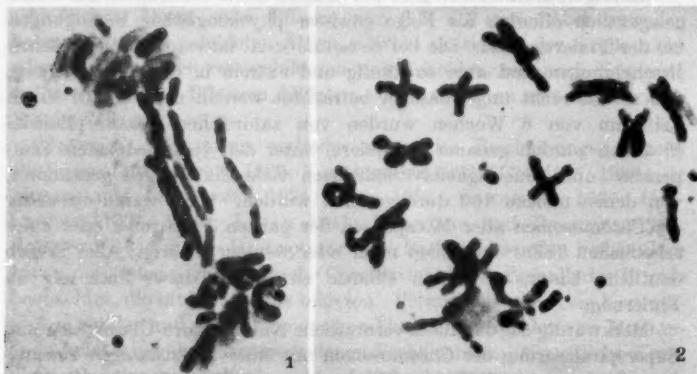


Abb. 1 u. 2. *S. cereale* × *A. intermedium*, etwa 950 ×. Abb. 1. AII, 5 dizentrische Chromatidbrücken, 3 freie, kugelförmige Fragmente. Abb. 2. Interphase mit Fragmenten.

Fragmente handelt es sich in Tabelle 1 um ausgesprochene Minimalwerte, da anzunehmen ist, daß weitere, durch Chromosomen verdeckte Fragmente nicht erfaßt wurden. Durchschnittlich wurden bei der Pflanze K 573/24 in 50 Zellen der frühen bis mittleren Anaphase I 4,8 freie Fragmente je Zelle gezählt und in der frühen bis mittleren Anaphase II 5,7. Aber aus den oben genannten Gründen und auch deshalb, weil keine genauen qualitativen Erhebungen der Fragmentierungen gemacht wurden, haben diese Zahlen nur begrenzte Bedeutung. Bemerkenswerter ist schon, daß in der Anaphase II bis zu 18 freie Fragmente in einer Halbdyade gefunden wurden (Tabelle 1). Diese Pflanze (K 573/24) und Fixierung gehört aber keineswegs zu denen mit stärkster Fragmentierung. Die Mehrheit der Fragmente besteht aus kleinen und kleinsten Bruchstücken bzw. „Chromatintropfen“ (s. Abb. 1).

In der untersuchten Bastardpflanze (Tabelle 1) wurden in der Anaphase II bis zu 7 Brücken je Halbdyade gesehen (s. Abb. 1). Bei den Auszählungen der Brücken ist von Bedeutung, daß in der Anaphase II mit 1,38 Brücken je Halbdyade über $2^{1/2}$ mal mehr Brücken als in der

Anaphase I beobachtet wurden, d. h. je Dyade kamen in A_{II} über 5mal mehr Brücken vor als in A_I je Pollenmutterzelle.

2. *T. durum* und *dicoccum* \times *A. intermedium* ($2n = 25$).

Bei 28 untersuchten Bastardpflanzen wurden in der Metaphase I durchschnittlich von etwa 3—8 Bivalente (einschließlich der Multivalente) je PMZ gezählt (GAUL 1953a). Der Mechanismus der Teilung und Verteilung der Univalente ist ähnlich wie bei *S. cereale* \times *A. intermedium*.

Einige wenige Hybridpflanzen zeigten prinzipiell ähnliche Aberrationen, wie sie bei *S. cereale* \times *A. intermedium* oben beschrieben worden sind, während die große Mehrheit der Pflanzen, zumindest in bezug auf derartig komplexe Anomalien, einen relativ „normalen“ Eindruck machte. Bei den wenigen, in diesem Sinne aberranten Bastardpflanzen waren die Anomalien nicht so extrem ausgeprägt wie bei *S. cereale* \times *A. intermedium*.

Kimmerantheren. Typische Kümmerantheren, die denen von *S. cereale* \times *A. intermedium* vergleichbar wären, wurden nicht gefunden.

Syndiploide Zellen. Vereinzelt wurden syndiploide Zellen gefunden. Der linke Kern in Abb. 5 ist bereits in M_I (stark verklebt), aber rechts am linken Kern ein Stabbivalent zu erkennen, unterhalb des Kernes 2 Univalente), der rechte Kern noch in der

Tabelle 1. Brücken und Fragmente.
(Wenn nicht anders vermerkt, Auszählungen von 50 Zellen.)

Bastard	Brücken in A_I je PMZ			Maximale Beobachtung freier Fragmente je PMZ in A_I			Brücken in A_{II} je Halbdyade			Maximale Beobachtung freier Fragmente je Halbdyade in A_{II}		
	frühe bis mittlere A_I bis Teloph. I			frühe bis mittlere A_I bis Spalte Teloph. I			frühe bis mittlere A_{II} bis Teloph. II			frühe bis mittlere A_{II} bis Teloph. II		
	\varnothing	Var.	\varnothing Var.	\varnothing	Var.	\varnothing Var.	\varnothing	Var.	\varnothing Var.	\varnothing	Var.	\varnothing Var.
<i>S. cereale</i> \times <i>A. interm.</i> K 573/24	0,52	0—3	0,33	0—2	13	12	1,38	0—7	0,98	0—4	18	10
4 n <i>Trit.</i> \times <i>A. interm.</i> K 529/3	1,90	0—5	1,10	0—3	16	2,41*	0—8*	1,74*	0—6*	9*	5*	—
4 n <i>Trit.</i> \times <i>A. interm.</i> K 536/1 **	0,46	0—2	—	—	1	—	0,50	0—2	—	—	3	0
6 n <i>Trit.</i> \times <i>A. interm.</i> K 1/27	1,26	0—4	1,14	0—3	4	6	0,50	0—2	0,28	0—2	—	—

* Auszählungen an 100 Halbdyaden. ** Nur frühe bis mittlere A_I ausgezählt.

frühen Prophase. (Die Abbildung zeigt diese tatsächlichen Verhältnisse nicht so deutlich.) Abb. 6 zeigt solch eine Zelle in vorgerücktem Stadium, ein Kern ist bereits in der A_I (6 Brücken), rechts daneben befindet

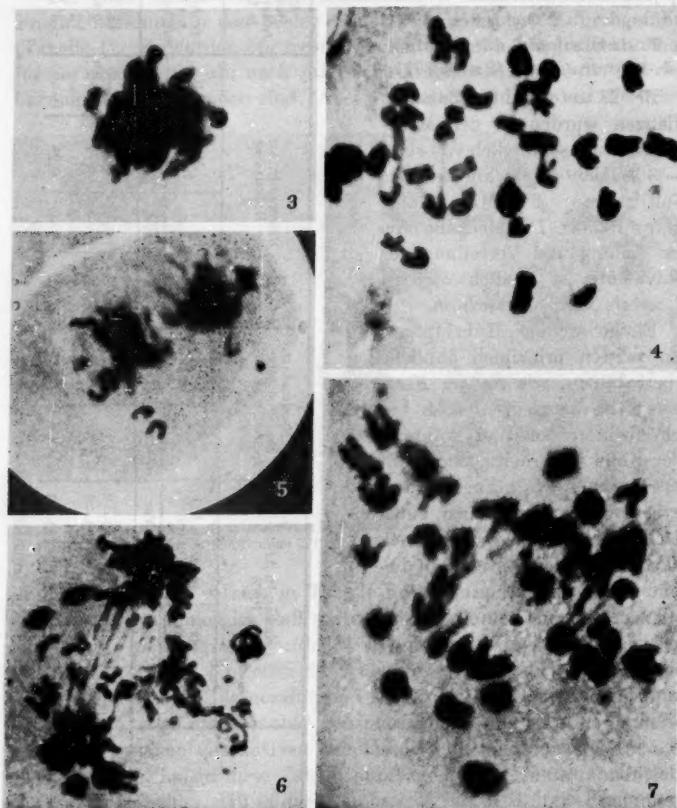


Abb. 3—7. *T. durum* × *A. intermedium*, Abb. 3 etwa 1050×, Abb. 4, 7 etwa 950×, Abb. 5 etwa 550×, Abb. 6 etwa 1100×. Abb. 3. M_I, klebrige Chromosomen. Abb. 4. A_I, 3 Bivalentbrücken. Abb. 5. Syndiploide Zelle mit klebrigen Chromosomen, linker Kern in M_I, rechter Kern in Prophase. Abb. 6. Zelle mit 2 Kernen, von denen der linke in A_I (6 Brücken), rechts prophasisches Chromatinmaterial (Zytomixis!). Abb. 7. A_I, rechts trianguläre Konfiguration, bei der 3 Chromosomen mit 2 Brücken verbunden sind, links außerdem 2 Bivalentbrücken, ferner Fragmente.

sich noch prophasisches Chromatinmaterial. Es kann nicht entschieden werden, ob der rechte Kern vollständig war und dann möglicherweise

aus einer prämeiotischen Mitosestörung hervorgegangen ist, oder ob es sich um einen Teil eines Kernes handelt, der dann vielleicht die Folge echter Zytomixis ist.

Verklebungen von Chromosomen. Die gleiche Pflanze (K 529/3) bei der gelegentlich solche syndiploiden Zellen gefunden wurden, die außerdem zum Teil klebrige Chromosomen hatten, zeigte auch in anderen Pollenmutterzellen Chromosomenverklebungen in unterschiedlichem Grade. Bei dieser Pflanze wurden 2 Fixierungen von unterschiedlichen Tagen miteinander verglichen. Beide zeigten die klebrigen Zellen in M_I , aber bei der einen waren etwa 50% der Zellen so stark verklumpt, wie es Abb. 3, zeigt und bei der anderen nur etwa 5—10%. Bei dieser letzteren waren viele Zellen etwas aufgelockerter, und es konnten gerade noch 50 Zellen gefunden werden, die für die üblichen Paarungsauszählungen (GAUL 1953a) analysierbar waren.

Synchronisation. Mangelhafte Synchronisation der Pollenmutterzellen fand sich zwar gelegentlich auch bei $4n$ *Triticum* \times *A. intermedium*, aber diese war bei weitem nicht so extrem wie bei *S. cereale* \times *A. intermedium*.

Fragment- und Brückenbildung. Die gleiche Pflanze (K 529/3), die bei der Durchsicht des Materials schon wegen der syndiploiden Zellen und der Chromosomenverklumpungen aufgefallen war, zeigte stärkere Brückenbildung und Fragmentierung als die meisten anderen Bastarde der gleichen Kombination (Tabelle 1). Auffallend ist wiederum die große Zahl von freien Fragmenten (maximal 16 je PMZ) sowie die größere Häufigkeit von Brücken in Anaphase II gegenüber solchen in Anaphase I. In A_{II} wurden durchschnittlich fast 5 dizentrische Chromatidbrücken je Dyade gesehen und vereinzelt bis zu 8 je Halbdyade. Die A_1 -Brücken (Abb. 4, 7) waren zum größten Teil „Bivalentbrücken“ (WALTERS 1950), d. h. die Chromosomen an beiden Enden der Brücke bestanden aus je 2 Tochterchromatiden und die Brücke verband nur einen der 4 Arme des einen Chromosoms mit einem der 4 des anderen. „Doppel-Bivalentbrücken“, bei denen entsprechend je 2 Arme der beiden Chromosomen miteinander verbunden sind, wurden, wie bei WALTERS (1950), nicht mit Sicherheit beobachtet.

Abb. 7 zeigt neben 2 Bivalentbrücken eine (selten vorkommende) triangulare Konfiguration (rechts im Bild), die ebenfalls von WALTERS gefunden wurde. Hier sind 3 Chromosomen durch 2 Brücken verbunden, nämlich 2 Arme eines Chromosoms mit je einem Arm von 2 anderen Chromosomen.

Freilegung der Spirallisation in Verbindung mit starker Fragmentierung. Bei einer anderen Pflanze (K 532/2) fiel der hohe Grad der Fragmentierungen auf, die in den meisten Fällen vorhanden waren. Klebrige Chromosomen gab es hier nicht oder nur schwächer ausgeprägt. Statt dessen

war die Spiralisierung stets mehr oder weniger deutlich freigelegt. Abb. 8 zeigt etwa 8 Großspiralen (major spirales) je Chromosom (in der Mitte ein Stab-II, ein Teil der Chromosomen außerhalb der Scharfeinstellung). Wieder zeigen sich alle Übergänge bis zur totalen Fragmentation, die hier mit Spiralisationsdefekten verbunden ist (Abb. 9).

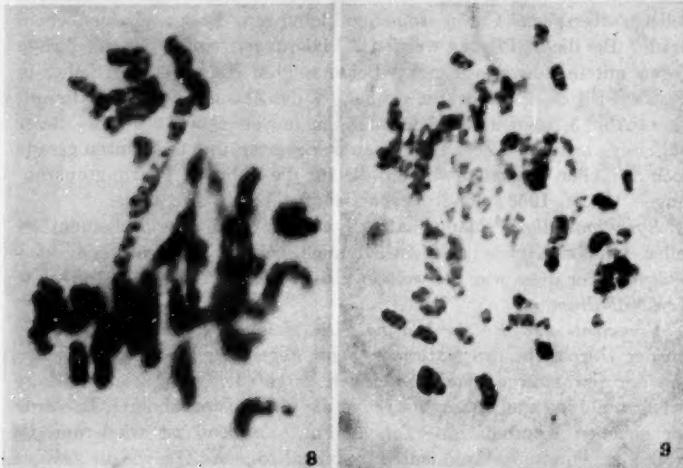


Abb. 8 u. 9. *T. durum* × *A. intermedium*, MI. Abb. 8 etwa 1300 ×, Abb. 9 etwa 950 ×.
Abb. 8. Sichtbarwerden der Spiralisierung, wahrscheinlich als Folge von Nukleinsäuremangel. Abb. 9. Spiralisationsdefekte in Verbindung mit weitgehender Fragmentation.

3. *T. aestivum* × *A. intermedium* ($2n = 42$).

40 untersuchte Bastardpflanzen dieser Kombination hatten durchschnittlich von etwa 2—14 Bivalente, einschließlich von Multivalenten, in der Metaphase I (GAUL 1953a).

Kümmerantheren, Zytomixiserscheinungen und stärkere Verklebungen von Chromosomen wurden nicht gefunden. Auch Spiralisationsfehler waren nicht besonders ausgeprägt.

Im Gegensatz zu den Bastarden der anderen Kombinationen war hier bei einer näher untersuchten Pflanze (Tabelle 1) der Anteil der A_1 -Brücken größer als derjenige der A_{II} -Brücken. Auch ist die Fragmentbildung wesentlich geringer als in den anderen Kombinationen, obgleich bei *T. aestivum* × *A. intermedium* die höchste Chromosomenzahl vorhanden ist. Dies weist auf eine grundsätzlich andere Entstehungsursache der Brücken und Fragmente als in den anderen Bastard-Kombinationen hin, nämlich auf heterozygote Inversionspaarung. Typische

Brücken-Fragmentkonfigurationen wurden jedoch seltener gesehen. Schließlich muß darauf hingewiesen werden, daß gelegentlich bei verzögerten Univalenten dizentrische Chromatidbrücken in der Anaphase I beobachtet wurden.

C. Diskussion.

Wenn auch keine eingehenden qualitativen Untersuchungen über die Fragment- und Brückenbildung unternommen wurden, so lassen die vorliegenden Beobachtungen doch eine interessante Folgerung zu.

Es ist recht unwahrscheinlich, daß die bei *S. cereale* und $4n$ *Triticum* \times *A. intermedium* beobachtete Fragment- und Brückenbildung das Ergebnis heterozygoter Inversionspaarung ist. Viel eher handelt es sich hier, zumindest vorwiegend, um das Resultat von spontanen Bruch- und Fusionsvorgängen der Chromosomen.

Hierfür spricht (1) das ungewöhnlich häufige Auftreten von Fragmenten (Tabelle 1), das bis zur totalen Fragmentation des Zellkernes führen kann; auch werden zum Teil Fragmente schon im Diplotän und in der Diakinese beobachtet. Weiterhin spricht (2) gegen die Annahme von Inversionsbrücken die viel größere Häufigkeit von A_{II} -Brücken gegenüber A_I -Brücken (Tabelle 1). Heterozygote Inversionspaarung hat meistens nur Brücken in der Anaphase I zur Folge. Zwar können als Folge von crossing-over in heterozygoten Inversionen auch in der Anaphase II Brücken aus Ringchromatiden (loop-chromatids) der ersten meiotischen Teilung entstehen; diese Ringchromatiden haben aber mindestens 2 Chiasmen auf den gepaarten Armen mit Inversion zur Voraussetzung (RICHARDSON 1936, DARLINGTON 1937). Bei den Bastarden aus *Secale* und *Triticum* \times *Agropyrum* wurden jedoch nur in ausgesprochenen Ausnahmefällen 2 Chiasmen je Paar von Chromosomenarmen gezählt (GAUL 1953a). So wurden z.B. bei den hier besonders zur Diskussion stehenden Pflanzen K 573/24, K 529/3, K 536/1 in jeweils 50 bzw. 40 ausgezählten Metaphasen nur ein einziges Mal oder sogar nullmal 2 Chiasmen je Paar von Chromosomenarmen gesehen; überdies waren sie hier in Trivalenten vorhanden. Heterozygote Inversionspaarung kann also nicht die Ursache der Brücken in der zweiten Reifeteilung sein. — Die Annahme, daß es sich um spontane Bruch- und Fusionsvorgänge der Chromosomen handelt, wird (3) weiterhin durch den Charakter der gleichzeitig mit ihnen auftretenden, anderen Anomalien unterstrichen. Hierauf soll in der zweiten Hälfte der Diskussion näher eingegangen werden.

Die zahlreichen „einfachen Bivalentbrücken“ (Abb. 4, 7) in der ersten Reifeteilung können als Folge von je einem Chromatidbruch zweier Chromosomen mit anschließender Fusion der beiden zentromertragenden Fragmente angesehen werden. Hieraus entsteht ein dizentrisches Chromosom, bei dem die beiden Zentromere nur durch einen

einfachen Chromatidstrang miteinander verbunden sind. „Doppel-Bivalentbrücken“ besitzen 2 Chromatidstränge. Sie haben entsprechend den Bruch zweier Chromosomen (2 Bruchflächen) bzw. zweier Isochromatidbrüche (4 Bruchflächen) zur Voraussetzung und eine anschließende Fusion der 2 bzw. 4 Bruchflächen der zentromertragenden Fragmente. Solche Doppelbivalentbrücken wurden nicht mit Sicherheit gesehen.

Die dizentrischen Chromatidbrücken (Abb. 1) in der Anaphase der zweiten Teilung werden in der Literatur über strahlen- oder chemikalien-induzierte Chromosomenmutationen gewöhnlich als Ergebnis der Fusion von gebrochenen Schwesterchromatiden (sister chromatid reunion) oder als Folge von Ausbleiben der Genreproduktion und Chromatidtrennung (Nukleinsäure-„starvation“) angesehen. Hat in der meiotischen Prophase oder in dem davorliegenden Ruhekernstadium ein spontaner Isochromatid- bzw. Chromosomenbruch eines Univalenten mit anschließender Schwesterchromatidvereinigung stattgefunden, so braucht dieses erst in der Anaphase II als Brücke sichtbar zu werden, da die Univalente sich hier oft erstmals teilen und in A_I nur ungeteilt von den Polkernen eingeschlossen werden. Auch ist es außerdem möglich, daß durchgerissene A_I -Brücken, entsprechend dem von MCCLINTOCK (1941) gefundenen Bruch-Fusion-Brücke-Zyklus, in A_{II} zu neuen Brücken führen. Die große Häufigkeit von A_{II} -Brücken kann so durch erstmalig auftretende und durch zyklisch wiederkehrende hinreichend erklärt werden.

Ähnliche Verhältnisse der Fragment- und Brückenbildung, wie sie hier für Gattungsbastarde von *Secale*, *Triticum* und *Agropyrum* gezeigt wurden, hat kürzlich WALTERS (1950) bei *Bromus*-Artbastarden eingehender beschrieben. WALTERS untersuchte hier die Frage der spontanen Chromosomenbrüche, sowie besondere ihrer Fusion (reunion) und Rekombination (interchange) in meiotischen Zellen. Sie stellt die Hypothese auf, daß in der Prophase Isochromatid- oder Chromatidbrüche stattfinden, die zur Rekombination zwischen nicht homologen Univalenten führen können. Solche asymmetrischen Chromatidaustausche können zu scheinbaren „Bivalenten“ und „Trivalenten“ in der Metaphase führen, die von echten nicht unterscheidbar sind (s. WALTERS 1950, Fig. 2). Erst die „Bivalentbrücken“ bzw. die triangularen Konfigurationen in A_I legen ihren Pseudocharakter frei. Schon vor WALTERS hatte aber LEVAN (1942), vor allem auf Grund der anaphasischen Brückenbildung, eine ähnliche Anschauung für die Bivalente des haploiden Roggens entwickelt. „Thus it is possible that some of the terminal chiasmata observed at metaphase I actually constitute chromatid reunions“ (S. 191). Der Unterschied der Auffassungen zwischen WALTERS und LEVAN liegt im wesentlichen nur darin, daß LEVAN einen Bruch der

heterochromatischen Chromosomenenden in den mitotischen Teilungen annimmt, WALTERS dagegen die meiotische Prophase als den Zeitpunkt für das Brechen der Chromosomen ansieht; beide Autoren nehmen aber die Fusion in der meiotischen Prophase an. Neuerdings deuten auch STEBBINS und SINGH (1950) bei *Agropyrum inerme* × *Elymus glaucus* ihre Brücken und Fragmente im Sinne von WALTERS.

Wie oben dargestellt, sind gute Anzeichen vorhanden, auch die bei *S. cereale* × *A. intermedium* gefundenen A_1 -Brücken zumindest teilweise als eine Folge von asymmetrischem Chromatidaustausch zwischen nicht homologen Chromosomen anzusehen. Die Befunde können wahrscheinlich als eine Stütze der Hypothese von WALTERS (1950) angesehen werden.

Führt der Chromatidbruch und die anschließende Rekombination zwischen nicht homologen Univalenten zu Pseudobivalenten in der Metaphase I, so ist ein Zusammenhang zwischen der Anzahl der „überzähligen“ Bivalenten in den Bastarden und der Anzahl der ausgezählten Brücken in der Anaphase I zu erwarten; denn jedes zusätzliche „Bivalent“, das nicht auf der Grundlage normaler, homologer Paarung gebildet ist, wird seinen Pseudocharakter etwas später in einer Bivalentbrücke offenbaren. Die *Bromus*-Artbastarde von WALTERS (1950) lassen einen solchen Vergleich von überzähligen Bivalenten und A_1 -Brücken nicht zu, da die genaue Anzahl (partiell) homologer Chromosomen nicht feststeht. Bei *Triticum* × *A. intermedium* verschleiert die Asynapsis diese Verhältnisse (GAUL 1953b). Bei *S. cereale* × *A. intermedium* dagegen ist ein solcher Vergleich eher möglich. In dieser Kreuzung $\frac{Sec}{I_1 I_2 X_m}$ (jedes der 4 Genome hat 7 Chromosomen) wurden meist 7 oder etwas mehr Bindungen¹ beobachtet, die auf Autosyndese der beiden *A. intermedium*-Genome $I_1 I_2$ zurückgeführt wurden (GAUL 1953a). Bei der auf Brücken näher untersuchten Pflanze K 573/24 wurden nun in der frühen bis mittleren Anaphase I 0,52 Brücken je Zelle gezählt (Tabelle 1) und in der voraufgegangenen Metaphase 7,40 Bindungen je Zelle (GAUL 1953a, Tabelle 6). Die über 7 hinausgehenden Bivalente sind also vermutlich keine echten Bivalente auf homologer Paarungsgrundlage, sondern Pseudobivalente. Ihr Wert (+ 0,40 Bindungen) korrespondiert mit dem der A_1 -Brücken (0,52). Es ist denkbar, daß der etwas höhere Wert der Brücken auf zusätzlichen Univalentbrücken und Inversionsbrücken beruht.

Es liegt nahe, zu vermuten, daß auch bei der problematischen Paarung der Monohaploiden die Möglichkeit der Bildung solcher Schein-

¹ Unter „Bindungen“ sind nach KIHARA Bivalente und Multivalente zusammengefaßt, wobei Bi- und Trivalente als eine Bindung gelten, Quadrivalente als zwei (GAUL 1953a, Einleitung, Fußnote). Die bei *S. cereale* × *A. intermedium* beobachteten „Bindungen“ bestehen zum stark überwiegenden Teil aus Bivalenten.

bivalente nicht immer genügend berücksichtigt wurde. LEVAN (1942) diskutiert diese Möglichkeit für haploiden Roggen. SMITH (1946) fand bei haploidem *Triticum monococcum* 3,2% Zellen mit Bivalenten in Metaphase I und 2,9% Zellen mit Brücken in Telophase I (8 oder 9 Brücken hatten ein Fragment).

Schließlich liefern für die Anschauung, daß es sich bei der Fragment- und Brückenbildung von den Bastarden *S. cereale* und $4n$ *Triticum × A. intermedium* in erster Linie um spontane Bruch- und Fusionsvorgänge handelt, die hiermit verbundenen Begleiterscheinungen eine Stütze. Vor allem treten nämlich oft gleichzeitig folgende Anomalien auf: Chromosomenverklebungen; übermäßige Chromosomenkontraktion (wahrscheinlich Superspiralisation); schmale achromatische Einschnürungen in den Chromosomen (wahrscheinlich lokaler Nukleinsäuremangel im Heterochromatin); schwächer gefärbte, etwas länger erscheinende (unter-spiralisierte?) Schrumpfarme; Freilegung der Spiralsation, zum Teil verbunden mit Totalfragmentation; Fehler in der Synchronisation der Pollenmutterzellen.

Seit BEADLE (1933) bei seinem „sticky“ Mais die Erscheinung der Klebrigkeit von Chromosomen zum erstenmal beschrieb und sie durch ein rezessiv mendelndes Gen kontrolliert fand, sind Fälle von spontan auftretenden klebrigen Chromosomen oft beobachtet worden (z.B. LILJEFORS 1936, EMSWELLER und JONES 1938, KLINGSTEDT 1939, JOHNSON 1944, SMITH 1947). Fast immer wurde gleichzeitig über Fragment- und Brückenbildung, vor allem in der Meiosis dieser Pflanzen berichtet. Besonders typisch sind vielleicht BEADLES (1933, 1937) Mais und JOHNSONS (1944) Inzuchtlinien von *Alopecurus myosuroides*. Diese beiden eingehend beschriebenen Fälle zeigen beträchtliche Ähnlichkeit mit den in diesem Bericht dargestellten Verhältnissen.

Solche recht ähnlichen Zellen mit klebrigen Chromosomen sind nun nach Behandlung mit mutagenen Agentien wie Röntgenstrahlen, UV-Licht, zahlreichen Chemikalien eine allgemeine Erscheinung und können auch nach Behandlung mit Hitzeschock (EMSWELLER und BRIERLY 1943) auftreten. Stets sind sie auch hier mit Chromosomenbrüchen und Rekombinationen verbunden.

DARLINGTON (1942) führt die Klebrigkeit der Chromosomen auf eine Überladung von Nukleinsäure zurück, die eine flüssige oder unpolymersierte Chromosomenoberfläche zur Folge hat. Störungen des Nukleinsäurestoffwechsels können nach dieser Theorie nicht nur zur Überladung führen, sondern gleichzeitig auch zur gegenteiligen Erscheinung, zum Nukleinsäuremangel (nucleic acid starvation) (DARLINGTON und LA COUR 1940). Sie gehen ferner oft parallel mit Spiralsationsdefekten und mit Störungen der Genreproduktion, besonders der Endgene, sowie

Fehlern der Synchronisation und schließlich vor allem mit Chromosomenbrüchen und Zentromerdefekten (DARLINGTON und KOLLER 1947).

Auch in den Bastarden von *S. cereale* und $4n$ *Triticum* \times *A. intermedium* wurde nahezu der ganze Komplex dieser Anomalien gefunden. Hierdurch unterscheiden sie sich von den *Bromus*-Artbastarden (WALTERS 1950), bei denen nur über Bruch- und Rekombinationsvorgänge berichtet wird. Die Anomalien sind bei den in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Bastarden mehr komplexer Natur, bei jenen von WALTERS mehr spezifischer. Die Ähnlichkeit der komplexen zellphysiologischen Anomalien, welche durch die bisher wenig spezifisch wirkenden Agentien künstlich induziert werden mit den spontan bei *S. cereale* und $4n$ *Triticum* \times *A. intermedium* auftretenden ist groß.

Bei den Bastarden der Kreuzung *T. aestivum* \times *A. intermedium* liegen die Verhältnisse wahrscheinlich anders als in den anderen beiden Kombinationen. Hier sind die Anomalien nicht komplex, sondern spezifisch. Die Brücken von *T. aestivum* \times *A. intermedium* können vermutlich zum größten Teil als Ergebnis von Inversionspaarung angesehen werden (Tabelle 1), obwohl typische Brücken-Fragmentkonfigurationen seltener gesehen wurden. Besonders der Anteil an A_{II} -Brücken und an Fragmenten ist hier nämlich geringer. Aber in den A_I kamen gelegentlich bei verzögerten Univalenten dizentrische Chromatidbrücken vor, was darauf hinweist, daß ähnliche Vorgänge, wie sie oben beschrieben wurden, auch eine gewisse Rolle spielen.

Auch bei den untersuchten Bastardpflanzen von *S. cereale* und $4n$ *Triticum* \times *A. intermedium* mögen Inversionsbrücken und -fragmente mit eingeschlossen sein. Aber mit großer Wahrscheinlichkeit spielen sie nur eine stark untergeordnete Rolle.

Wenig kann über die physiologische Entstehungsursache der beobachteten Chromosomenmutationen gesagt werden. Die Ähnlichkeit der komplexen Erscheinungen mit den nach Röntgenstrahlen usw. erzeugten macht einen Zusammenhang zwischen den spontanen und induzierten Chromosomenmutationen deutlich. Vermutlich werden die beobachteten Anomalien genetisch kontrolliert, wie dieses mit der Asynapsis bei $4n$ und $6n$ *Triticum* \times *A. intermedium* (GAUL 1953b) der Fall ist. Es besteht hier vor allem die Möglichkeit, daß (1) Komplementärwirkung der differenten Bastardgene bestimmte Störungen im zellphysiologischen Ablauf verursacht; oder es können (2) solche Störungen auch die Folge davon sein, daß der genetische Zustand in den Bastarden dem vollständiger Inzucht ähnelt, da beide bzw. einer der Eltern heterozygot ist. In den Bastarden ist also jeder Elter sozusagen im haploiden Zustand vorhanden und deshalb dem der (homozygoten) Inzucht ähnlich. Veränderungen des normalen zellphysiologischen Ablaufs mögen

indirekt den Komplex der Störungen des Nukleinsäurestoffwechsels und der Chromosomenmutationen bewirken.

Zusammenfassung.

Bei *Secale cereale* \times *Agropyrum intermedium* sowie bei $4n$ und $6n$ *Triticum* \times *A. intermedium* konnten in der Meiosis eine Reihe von Anomalien festgestellt werden. So wurde bei *S. cereale* \times *A. intermedium* beobachtet: frühzeitige Degeneration der Pollenmutterzellen und des Archespors in Verbindung mit Kümmerantheren, Zytomixis oder verwandte Erscheinungen, extremer Mangel an Synchronisation, klebrige Chromosomen, übermäßige Chromosomenkontraktion, achromeatische Einschnürungen in den Chromosomen, Schrumpfarme und vor allem starke Brückenbildung in A_I und A_{II} und Fragmentierungen, die bis zum totalen Zusammenbruch der Zelle führen können. A_{II} -Brücken treten wesentlich häufiger als A_I -Brücken auf. Die spontane Fragment- und Brückenbildung, verbunden mit dem Komplex der Chromosomenverklebungen und -verklumpungen, hat Ähnlichkeit mit den nach Röntgenbestrahlung usw. auftretenden Erscheinungen. Die Brücken in A_I können zum Teil im Sinne von WALTERS als Folge von Bruch und Rekombination nicht homologer Univalenter in der meiotischen Prophase angesehen werden, was zu Scheinbivalenten in M_I führt. Die dizentrischen Chromatidbrücken in A_{II} mögen das Ergebnis der Fusion von gebrochenen Schwesterchromatiden sein. Während bei *S. cereale* \times *A. intermedium* diese Erscheinungen extrem stark und häufig vorkamen, wurden die meisten auch bei $4n$ *Triticum* \times *A. intermedium* gefunden, hier aber nur vereinzelt und im allgemeinen weniger extrem. Die Brückenbildung bei $6n$ *Triticum* \times *A. intermedium* kann in erster Linie als Folge von heterozygoter Inversionspaarung angesehen werden.

Literatur.

BEADLE, G. W.: A gene for sticky chromosomes in *Zea mays*. Vererbungslehre **63**, 195—217 (1933). — Chromosome aberration and gene mutation in sticky chromosome plants of *Zea mays*. Cytologia, Fujii Jub.-Bd. 1937, 43—56. — DARLINGTON, C. D.: Recent advances in cytology, 2. Aufl. London 1937. — Chromosome chemistry and gene action. Nature **149**, 66—69 (1942). — DARLINGTON, C. D., and P. C. KOLLER: The chemical breakage of chromosomes. Heredity **1**, 187—221 (1947). — DARLINGTON, C. D., and L. LA COUR: Nucleic acid starvation of chromosomes in *Trillium*. J. Genet. **40**, 185—213 (1940). — EMSWELLER, S. L., and P. BRIERLEY: Effects of high temperature on metaphase pairing in *Lilium longiflorum*. Bot. Gaz. **105**, 49—57 (1943). — EMSWELLER, S. L., and H. A. JONES: Crossing over, fragmentation and formation of new chromosomes in an *Allium* species hybrid. Bot. Gaz. **99**, 729—772 (1938). — GAUL, H.: Genomanalytische Untersuchungen bei *Triticum* \times *Agropyrum intermedium* unter Berücksichtigung von *Secale cereale* \times *A. intermedium*. Z. Vererbungslehre **85**, 505—546 (1953a). — Asynapsis und ihre Bedeutung für die Genomanalyse. Z. Vererbungs-

lehr 86, 69—100 (1953 b). — JOHNSSON, H.: Meiotic aberrations and sterility in *Alopecurus myosuroides* Huds. *Hereditas* 30, 469—566 (1944). — KATTEERMANN, G.: Ein Beitrag zur Frage der Dualität der Bestandteile des Bastardkernes. *Planta* 18, 751—785 (1933). — Die cytologischen Verhältnisse einiger Weizen-Roggenbastarde und ihrer Nachkommenschaft („F₁“). *Züchter* 6, 97—107 (1934). — Chromosomenuntersuchungen bei halmbehaarten Stämmen aus Weizen-Roggenbastardierung. *Vererbungslehre* 73, 1—48 (1937). — Das Verhalten des Chromosoma für Behaarung roggenbehaarter Nachkommen aus Weizen-Roggenbastardierung in neuen Kreuzungen mit Roggen und Weizen. *Vererbungslehre* 74, 1—16 (1938 a). — Über konstante, halmbehaarte Stämme aus Weizen-Roggenbastardierung mit $2n=42$ Chromosomen. *Vererbungslehre* 74, 354—375 (1938 b). — KIHARA, H., u. F. LILIENFELD: Kerneinwanderung und Bildung synzytioploider Pollen-Mutterzellen bei dem F₁-Bastard *Triticum aegilopoides* \times *Aegilops squarrosa*. *Jap. J. Genet.* 10, 1—28 (1934). — KLINGSTEDT, H.: Taxonomic and cytological studies on grasshopper hybrids. I. Morphology and spermatogenesis of *Chortippus bicolor* Charp \times *Ch. biguttulus*. *L. J. Genet.* 37, 389—420 (1939). — LEVAN, A.: Syncytie formation in the pollen mother cells of haploid *Phleum pratense*. *Hereditas* 27, 243—252 (1941). — Studies on the meiotic mechanism of haploid rye. *Hereditas* 28, 177—211 (1942). — LILJEFORS, A.: Zytologische Untersuchungen über den F₁-Bastard *Triticum turgidum* \times *Secale cereale*. *Hereditas* 21, 240—262 (1936). — MARQUARDT, H.: Über die spontanen Aberrationen in der Anaphase der Meiosis von *Paeonia Tenuifolia*. *Chromosoma* 5, 81—112 (1952). — MCCLINTOCK, B.: A cytological and genetical study of triploid maize. *Genet.* 14, 180—222 (1929). — The stability of broken ends of chromosomes in *Zea mays*. *Genetics* 26, 234—282 (1941). — MÜNTZING, A., u. R. PRAKKEN: Chromosome aberrations in rye populations. *Hereditas* 27, 273—308 (1941). — OEHLKERS, F.: Entwicklung und Erblichkeit der Sterilität bei den Pflanzen. *Ber. über 7. Jahresversalg der Dtsch. Bot. Ges. für Vererbungswiss.* in Tübingen. 8.—12. Sept. 1929. *Vererbungslehre* 54, 51—75 (1930). — PETO, F. H.: The cytology of certain intergeneric hybrids between *Festuca* and *Lolium*. *J. Genet.* 28, 113—156 (1934). — PLOTNIKOWA, T. W.: Zytologische Untersuchung der Weizen-Roggenbastarde. I. Abnormale Kernteilung in somatischen Zellen. *Plants* 16, 174—177 (1932). — RICHARDSON, M.: Structural hybridity in *Lilium Martagon* album L. *Hansonii*. *J. Genet.* 32, 411—450 (1936). — SMITH, L.: Haploidy in Einkorn. *J. Agricult. Res.* 73, 291 bis 301 (1946). — Irregularities in a hybrid between *Triticum durum* and *T. persicum*. *J. Agricult. Res.* 75, 301—305 (1947). — STEBBINS jr., G. L., and R. SINGH: Artificial and natural hybrids in the Gramineae, tribe Hordeae. IV. Two triploid hybrids of *Agropyron* and *Elymus*. *Amer. J. Bot.* 37, 388—393 (1950). — STEBBINS jr., G. L., and M. S. WALTERS: Artificial and natural hybrids in the Gramineae, tribe Hordeae. III. Hybrids involving *Elymus condensatus* and *E. triticoides*. *Amer. J. Bot.* 36, 291—301 (1949). — WALTERS, M. S.: Spontaneous breakage and reunion of meiotic chromosomes in the hybrid *Bromus Trinii* \times *B. maritimus*. *Genet.* 35, 11—37 (1950). — YAMASHITA, K.: Über eine diplo-tetraploide Chimäre bei *Triticum*. *Cytologia*, Fujii Jub.-Bd. II, 1937, 1062—1069.

From the Institute of Genetics, University of Lund, Sweden.

CHROMOSOME GRADIENT AND CHROMOSOME FIELD
IN AGAPANTHUS.

By

A. LIMA-DE-FARIA.

With 47 figures in the text.

(*Ein eingangen am 8. Dezember 1953.*)

Contents.

	Page
I. Introduction	330
II. Material and technique	331
III. Observations	331
1. Structure of the chromosomes at middle prophase II	331
2. The construction of the chromosome maps	334
3. Analysis of the gradients at middle prophase II	336
4. The variation of the gradients at middle prophase II	337
5. Analysis of the gradients at pachytene	341
6. The variation of the gradients at pachytene	343
7. Chromosome condensation between middle prophase II and meta- phase II	346
8. Chromomere number and chromomere distribution	350
IV. The chromosome gradient	354
1. The occurrence of the gradients	354
2. Definition of chromosome gradient	355
V. The chromosome field	355
1. The function of the various chromosome regions	356
Kinetochores	356
Chromosome ends	356
Knob formations and adjacent regions	357
Recurrent seriations	358
Chromomeres	359
2. Definition of chromosome field	360
VI. The integration of the cytological and genetic data	362
Summary	367
Literature cited	369

I. Introduction.

The existence of a gradient in the chromosomes of rye was revealed by a detailed chromomere analysis, made at pachytene, of the chromosomes of this species. This detailed chromomere analysis included the study of the number, size and distribution of the chromomeres of each chromosome, thus permitting the construction of a map of each chromosome type (LIMA-DE-FARIA, 1952b).

In the chromosomes of the normal complement of rye the chromomeres are particularly large on both sides of the kinetochore. There

is a subsequent general decrease in chromomere size on both sides of the kinetochore towards the chromosome ends, where in most cases an abrupt increase in chromomere size takes place (knob formations). This gradient in chromomere size is present in every chromosome of the normal complement of the species.

Moreover, it was found that the rate at which this decrease in chromomere size takes place in every arm bears a definite relation to arm length and to the position of knob formations, the general chromosome pattern appearing to depend on the properties of kinetochores, knob formations, and other specialized regions of the chromosome body (LIMA-DE-FARIA, 1952a and b).

Such an analysis led to the conclusion that the size of a chromomere is determined not only by its genetic constitution and nuclear environment, but is also apparently dependent on its position within the chromosome. Experimental evidence of such a phenomenon is also available. Similarly, heteropycnotosis appears as a phenomenon determined not only by the genetic constitution and nuclear environment of a certain chromosome region but also by the position of this same chromosome region within the chromosome body.

To obtain more information concerning these findings the present investigation was carried out.

II. Material and technique.

Anthers of *Agapanthus umbellatus* were fixed in acetic-alcohol 1:4 for 4—6 hours, transferred to 95% alcohol, where they were left over night, being stored after this time in 70% alcohol. The preparations were made after a few days according to the squash technique used for pachytene chromosomes of rye (LIMA-DE-FARIA, 1948 and 1952b). After staining in iron-aceto-carmine and dehydrating in the usual way, the material was mounted in Canada balsam. This was the procedure used in the study of the second division of meiosis. When the material was used for pachytene studies it was worked out in the same way with the exception that, in this case, no previous fixation in acetic-alcohol was made. The buds were removed from the inflorescence, and an anther was immediately placed in a drop of iron-aceto-carmine. For the study of mitosis, root tips of well growing plants were treated with a 0.003 mol/l solution of oxyquinoline during six hours according to the technique of TJO and LEVAN (1950). The root tips were fixed and stained with aceto-orcein, and after squashing, the slides were made permanent in the same way as the other preparations. I am indebted to Dr. S. BOSS for making the preparations of root tip mitosis.

III. Observations.

1. Structure of the chromosomes at middle prophase II.

The prophase of the second division of meiosis is a relatively long and distinct stage in *Agapanthus umbellatus*. At interphase the chromosomes are not fully individualized, and pro-chromosomes may be observed

in the nucleus. Prophase II starts when the chromosomes appear individualized, and the pro-chromosomes resolve themselves into deeply stained regions on both sides of the kinetochore in every chromosome of the complement.

Three stages can be distinguished within prophase II: 1. early prophase II when the chromosomes appear individualized but are still

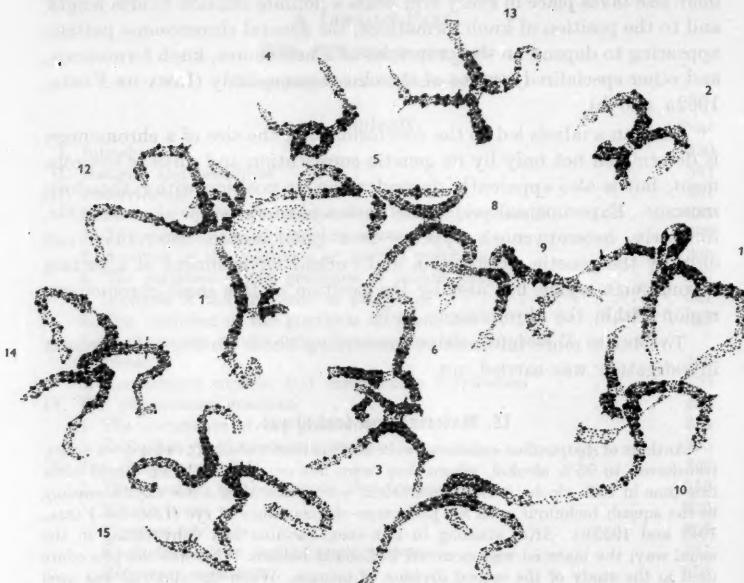


Fig. 1. *Agapanthus umbellatus*. Camera lucida drawing of the fifteen chromosomes of a single nucleus at middle prophase II. $\times 2000$.

too long and their structure is not yet very distinct, 2. middle prophase II when the chromomere structure and the differential staining of the arms are most distinct (Figs. 1 and 2) and 3. late prophase II when the chromosomes become rather deeply stained and contracted (Figs. 12—14 and Figs. 24—29). It should be noticed that the chromomere structure observed at middle prophase II is not so distinct as that seen at pachytene.

In the nucleus, at middle prophase II, represented in Figs. 1 and 2, all the fifteen chromosomes ($2n = 30$) could be followed in all their length, and their structure was particularly clear. Nearly all these chromosomes have arms of unequal size. In addition, the smallest chromosome has less than half the length of the longest one. Such

a range of arm length and chromosome length makes this material especially valuable for the study of the variation of the gradients in relation to differences in arm and chromosome size.

Owing to this feature of the *Agapanthus* chromosomes it is also possible to identify with certainty, at prophase II, which part of a chromosome belongs to one chromatid and which part belongs to the other chromatid. One short arm with one long arm make part of a



Fig. 2. Photomicrograph of the nucleus drawn in Fig. 1. $\times 2000$.

chromatid, and the other short arm and long arm make part of the other chromatid. At the beginning of anaphase II the chromosome will divide into two daughter chromosomes, through a plane which passes between both short arms and both long arms.

It may be seen in chromosome 15 (Fig. 1) that one of the chromatids is made up of the short arm, situated at 12 o'clock, the longitudinal half of the kinetochore (the kinetochore is the weakly stained region found between the short and the long arms) and the long arm at 3 o'clock. The other chromatid is made up of the other short arm, situated at 9 o'clock, the other longitudinal half of the kinetochore, and the other long arm at 7 o'clock. In this same chromosome the distal, median and part of the proximal regions of the short and long arms of one chromatid are widely

separated from those of the other chromatid, but the most proximal regions of the short and long arms of the two chromatids are in such close contact that the short arms of the two different chromatids appear as a single unit; as do also the long arms of the two different chromatids. The two chromatids of each chromosome are in close contact not only at their kinetochores but also at the most proximal regions of their arms. This same phenomenon can be easily observed in the other fourteen chromosomes of the complement. It can be seen later, at pro-metaphase, that the kinetochore is already divided at this stage (the two longitudinal halves of the kinetochore being separated from each other), and that the region of the chromosome which keeps the two sister chromatids in close association until the beginning of anaphase II is the most proximal region of the arms and not the kinetochore. This phenomenon was treated separately in another paper (LIMA-DE-FARIA, 1953).

At middle prophase II the kinetochore of each chromosome is a weakly stained region where no chromomeres can be seen (Figs. 1 and 2). A search for such chromomeres in many other cells did not reveal the existence of any discontinuous structure at the kinetochore.

Each arm of each chromatid is deeply stained in the vicinity of the kinetochore. This stainability of the arms decreases gradually towards the ends. The analysis of the nucleus represented in Figs. 1 and 2 completed by the study of many other nuclei (see also Figs. 9-11 and 18-23) revealed that there is, in the chromosome arms of *Agapanthus umbellatus*, a gradual decrease in chromomere size and in the stainability of the fibrillae. As can also be seen from Figs. 1 and 2, these gradients in chromomere size and stainability of the fibrillae do not follow the same course in all chromosomes and in all arms. To study best these phenomena a map of each chromosome was made (Fig. 3).

2. The construction of the chromosome maps.

The fifteen maps (Fig. 3) were constructed following the same procedure as was used in the construction of the pachytene maps of rye (LIMA-DE-FARIA, 1952b). Although the decrease in stainability that takes place in the arms is a gradual one, it is possible to divide each chromosome arm in three main regions according to the degree in stainability of these regions. The presence of the chromomere pairs helps to emphasize this slight discontinuity in the stainability of the fibrilla pairs. In this way each chromosome was divided into seven divisions (chromosomes 1 and 2 excepted): the weakly stained distal region of the left arm (*A*), a region of average stainability (*B*), a proximal deeply stained region (*C*), the kinetochore, a proximal deeply stained region of the right arm (*D*), again a region of average stainability (*E*), and again a weakly stained distal region (*F*). In drawing the maps the chromatid was chosen which exhibited the clearest structure of the two chromatids of each chromosome. The method of drawing a segment corresponding to the average of both chromatids of each chromosome was not used, because such a procedure would only increase the number of errors unavoidable in such a kind of work.

A map of each chromosome type was drawn by first measuring, with the help of a map measurer, the camera lucida drawings of each chromosome, and within each arm the length of the three different regions. Owing to the squash technique employed the chromosomes lie practically in a single plane (Fig. 2). For this reason a camera lucida drawing of the chromosome permits an accurate measurement of the chromosome length. The length given by the map measurer was marked on the paper and this space filled in with the chromomeres. The distance between the chromomeres, their number and size, as well as the stainability and thickness of the fibrillae were carefully checked. The length of the different regions of the fifteen chromosomes of *Agapanthus* are found in Table 1.

Whereas at pachytene two chromosomes are paired and one studies the chromomeres and fibrillae of chromosomes which have come together, here, at prophase II, the chromomeres and fibrillae belong to a half-chromatid which has not yet separated from its other half-chromatid. As the term fibrilla has a strictly morphological significance (cf. LIMA-DE-FARLA, 1952b) and as it is not possible to delimit on the inner part of each chromatid the zone of separation between the fibrillae belonging to one or the other half-chromatid, the thickness of a given fibrilla is considered to be the half of the thickness of the chromatid at that region.

The smallest arm of each chromosome was chosen as left arm, and the fifteen chromosomes were disposed in Fig. 3 in increasing order of length of their left arms. The kinetochores of all the chromosomes were placed on the same vertical line. These maps give information about the karyotype of *Agapanthus umbellatus*, but should not be understood as representing the exact idiogram of the species, owing to the fact that they are based on measurements

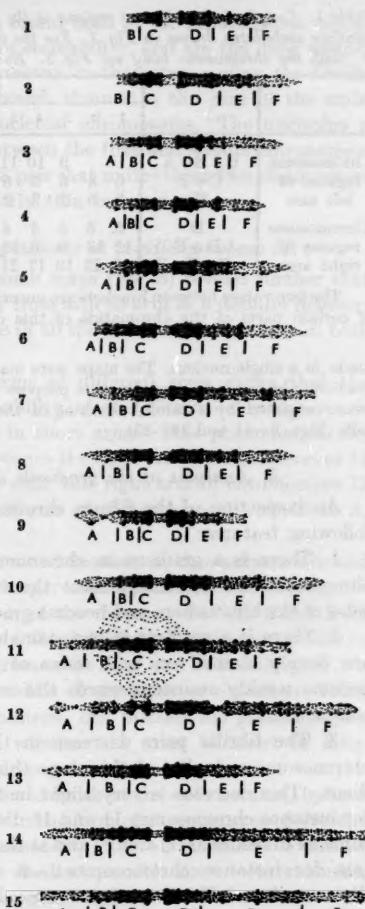


Fig. 3. Reference maps of the fifteen chromosomes of *Agapanthus umbellatus* at middle prophase II. Only one of the chromatids of each chromosome is represented. $\times 2250$.

Table 1. Length of the different regions of the arms of the 15 chromosomes of *Agapanthus umbellatus* drawn in Fig. 1. For the correspondence of the different regions with the chromosome body see Fig. 3. Each unit corresponds to 0.4 micra.

		Chromosome number														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Chromosome regions of left arm	C+B+A			9	10	11	11	12	13	14	14	(18)	18	19	19	19
	C+B	6	8	6	5	6	9	7	8	5	6	11	10	10	10	10
	C	3	5	2	3	2	5	3	3	2	3	6	4	3	7	5
Chromosome regions of right arm	D	5	6	5	4	4	6	6	6	3	7	7	9	7	7	6
	D+E	12	13	9	8	10	13	18	12	9	16	15	22	13	24	24
	D+E+F	17	22	19	17	21	24	26	21	14	28	(22)	34	20	36	36

The two values between brackets are uncertain owing to the abnormal distension of certain parts of the chromatids of this chromosome.

made in a single nucleus. The maps were made to permit a better analysis of the gradient phenomenon, and for this purpose they are quite useful because they were completed by a careful checking of the same phenomenon in many other cells (Figs. 9-11 and 18-23).

3. Analysis of the gradients at middle prophase II.

An inspection of the fifteen chromosome maps (Fig. 3) reveals the following features:

1. There is a gradient in chromomere size in each arm. In each chromosome of the complement the chromomeres are large on both sides of the kinetochore and become gradually smaller towards the ends.
2. There is a gradient in the stainability of the fibrilla pairs. These are deeply stained on both sides of the kinetochore and gradually become weakly stained towards the ends in each chromosome of the complement.
3. The fibrilla pairs decrease in thickness as they approach the chromosome ends, but at this stage this decrease does not follow a gradient. This decrease is very slight in the largest part of the arm (see for instance chromosomes 11 and 15 divisions A, B and C, and chromosome 14 divisions D, E and F) and at the arm ends becomes quite abrupt (see for instance chromosomes 2-6 division F, and chromosome 13 divisions A and F). At pachytene (see below) this decrease in thickness of the fibrilla pairs is very marked and distinctly follows a gradient. This means that at middle prophase II the fibrilla pairs keep a thickness that does not vary proportionately to their decrease in stainability.
4. The two gradients follow each other closely. The largest chromomeres are found in the region where the deeply stained fibrillae are present, the chromomeres of average size accompany the fibrillae of average stainability, and the smallest chromomeres are united by the most weakly stained fibrillae of the arms.

5. The fibrilla pairs that are found both at the kinetochores and at the ends have the same degree of stainability, and are the most weakly stained of the complement. Moreover, in these two regions the fibrilla pairs are particularly thin, although thinner in the case of the ends.

6. Chromosome 12 is the nucleolar chromosome. The nucleolus is attached at this chromosome between the first and second chromomere pair of division C, and the fibrilla pair that unites these two chromomere pairs was found to be particularly thin in most cells.

4. The variation of the gradients at middle prophase II.

The analysis of the chromosome maps (Fig. 3) reveals further that the gradients just described vary from arm to arm in a definite manner.

1. The two gradients originate in all the fifteen chromosomes on both sides of the kinetochore.

2. A comparison between arms of different sizes shows that the chromomere size and the stainability of the fibrillae decrease much more slowly in long arms than in short arms. This phenomenon can be observed by comparing for instance the right arms of chromosomes 14 and 15 (divisions D, E and F) with the right arm of chromosome 13 (divisions D, E and F) or the left arm of chromosome 10 (divisions A, B and C).

3. There is not only a slower rate of decrease in chromomere size and stainability of the fibrillae in the longer arms but this decrease is adapted to the distance at which the ends of the chromosomes are found from the kinetochores. The variation of the distribution of the two gradients is such that the decrease in chromomere size and stainability of the fibrillae does not finish in the middle of the arms or elsewhere, being followed after by an irregular pattern, but instead the gradients just finish at the chromosome ends whether the arms be short or long.

4. In twenty-eight of the thirty arms of the chromosome complement the two gradients can be seen to finish at the ends because, instead of the gradients reaching the ends in the form of chromomeres of average size and fibrillae of average stainability, the chromomeres found at the ends are chromomeres of the smallest possible size — chromomeres that are near the limit of microscopical resolution — and the fibrillae are also near the limit of stainability. Should the fibrillae have a still weaker stainability and the chromomeres be smaller, they would become invisible or nearly invisible.

5. In two of the arms, which are the smallest of the complement, there is a deviation from this pattern. In the two left arms of chromosomes 1 and 2 (divisions B and C) the decrease in chromomere size and stainability of the fibrillae is not sufficiently abrupt to finish at the end of the arms in chromomeres of the smallest possible size and

in fibrillae of the weakest stainability. These nuances are difficult to represent in india ink drawings but it may be seen in Fig. 3 that the ends of the left arms of chromosomes 1 and 2 (division B) are more deeply stained and have slightly larger chromomeres than the ends of the other arms (divisions A and F). Two other such arms are found in Figs. 9 and 18. The chromomere size and the stainability of these

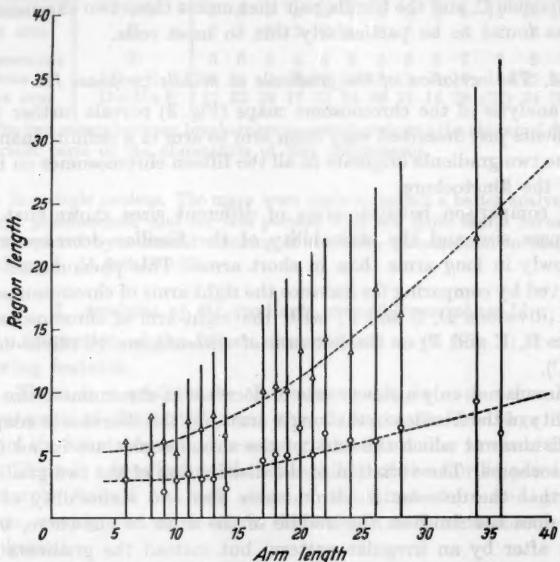


Fig. 4a. *Agapanthus umbellatus*, middle prophase II. Graphic representation of the length of the different arm regions (from the data found in Table 1). Legend: open circles = limits of the deeply stained regions; triangles = limits of the regions with average stainability; limits of the arms = limits of the weakly stained regions. Each unit corresponds to 0.4 micra. For further explanation see text.

regions is intermediate between that of the distal regions (divisions A and F) and that of the median regions (divisions B and E), approaching more that of the median regions. For this reason these terminal divisions of the left arms of chromosomes 1 and 2 were designated by the letter B. In this and other nuclei this phenomenon was only observed in the very short arms of the chromosome complement.

6. The nucleolar organizing region (chromosome 12), that is just situated at the side of the kinetochore, does not seem to interfere with the gradients except that the fibrilla pair which makes part of this region is particularly thin in this and other nuclei. In the left arm of this

chromosome (divisions A, B and C) the gradients follow the same course found in other arms of similar length.

7. When the length of the arm increases, the adjustment of the gradients to the longer distance between the kinetochore and the arm

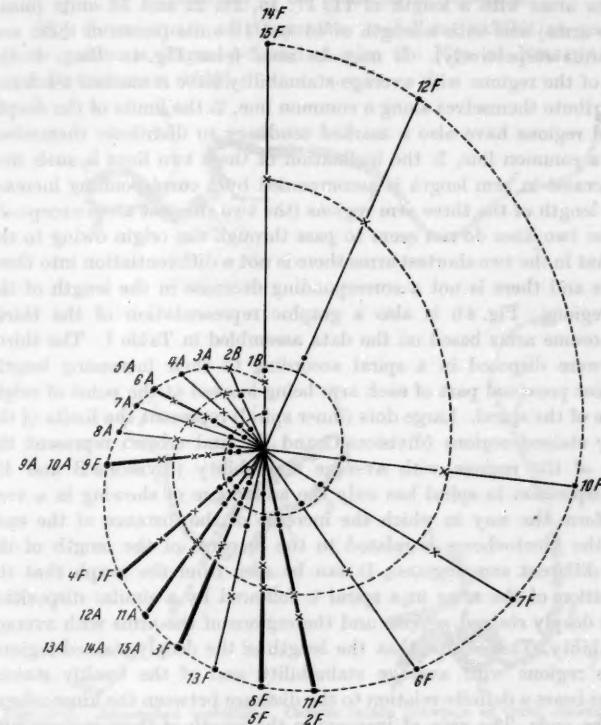


Fig. 4b. *Agapanthus umbellatus*, middle prophase II. Graphic representation of the data found in Table 1. Legend: point of origin of the spirals = most proximal part of each arm; large dots (inner spiral) = limits of the deeply stained regions; crosses = limits of the regions with average stainability; large dots (outer spiral) = limits of weakly stained regions and of arms; small circle = nucleolar organizing region (arm 12 A). The increase of the distance of the ends from the kinetochore is accompanied by a corresponding increase of the three arm regions. As a result the same type of pattern is maintained irrespective of arm length (the two smallest arms excepted).

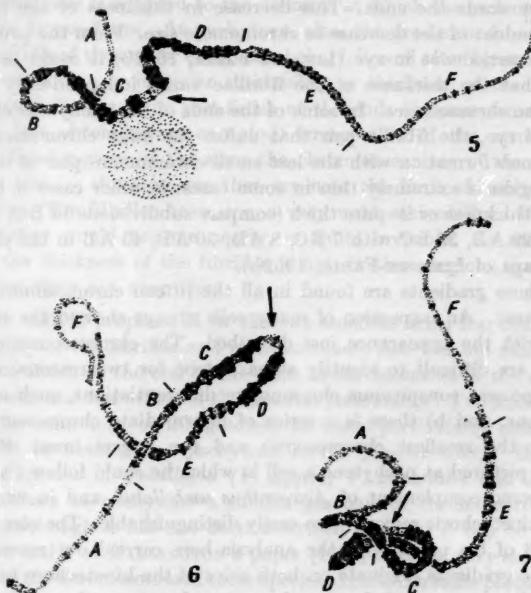
end results in an elongation of the three main regions of each arm. Fig. 4a was constructed by disposing along the horizontal axis the thirty chromosome arms of *Agapanthus umbellatus* according to their length (Table 1). From this arrangement it results that their extremities

become disposed along a straight line which passes through the origin and has an inclination of forty-five degrees. In the case where more than one arm had the same length only the average of the length values of the different regions was represented in the diagram. This is the case for arms with a length of 11, 17, 18, 21, 22 and 36 units (mean of two arms) and with a length of 14 and 19 units (mean of three and four arms respectively). It may be seen from Fig. 4a that: 1. the limits of the regions with average stainability have a marked tendency to distribute themselves along a common line, 2. the limits of the deeply stained regions have also a marked tendency to distribute themselves along a common line, 3. the inclination of these two lines is such that the increase in arm length is accompanied by a corresponding increase in the length of the three arm regions (the two shortest arms excepted), 4. these two lines do not seem to pass through the origin owing to the fact that in the two shortest arms there is not a differentiation into three regions and there is not a corresponding decrease in the length of the arm regions. Fig. 4b is also a graphic representation of the thirty chromosome arms based on the data assembled in Table 1. The thirty arms were disposed in a spiral according to their increasing length, the most proximal part of each arm being located at the point of origin or pole of the spiral. Large dots (inner spiral) represent the limits of the deeply stained regions (divisions C and D), and crosses represent the limits of the regions with average stainability (divisions B and E). The disposition in spiral has only the advantage of showing in a very clear form the way in which the increase of the distance of the ends from the centromeres is related to the increase of the length of the three different arm regions. It can be seen from the graph that the disposition of the arms in a spiral is followed by a similar disposition of the deeply stained regions and the regions of the arms with average stainability. This means that the length of the deeply stained regions, of the regions with average stainability and of the weakly stained regions bears a definite relation to the distance between the centromeres and the ends. The rate of increase in the length of these regions with increasing distance of the ends from the centromeres is, however, not the same in the three types of regions. The ratio between the three different regions of the two longest arms 14 DEF and 15 DEF and the corresponding regions of the two short arms 3 ABC and 4 ABC (1 BC and 2 BC being excluded owing to the lack of differentiation into three regions) is 2.6 for the deeply stained regions, 5.8 for the regions with average stainability and 3.0 for the weakly stained regions of the arms (data extracted from Table 1). Thus, when the distance between the centromeres and the ends increases, the deeply stained regions are those that increase less in length. The weakly

stained regions increase slightly more in length than the deeply stained ones but the regions with average stainability increase nearly twice as much as the two other types of region.

5. Analysis of the gradients at pachytene.

The chromosomes of *Agapanthus umbellatus* exhibit at pachytene three gradients (Figs. 5-7 and cf. also the Figs. of BELLING, 1928b and DARLINGTON, 1933).



Figs. 5-7. *Agapanthus umbellatus*. Camera lucida drawings of three chromosomes at pachytene. Fig. 5. Nucleolar chromosome. — Figs. 6 and 7. Two other chromosomes of the complement. The kinetochores are indicated by an arrow. The letters refer to regions of the same type as those marked in Fig. 3. $\times 2250$. See also the Figs. of BELLING, 1928b and DARLINGTON, 1933.

1. There is a gradient in chromomere size. The chromomere pairs are large on both sides of the kinetochore and become gradually smaller towards the ends. At the very ends one or two chromomere pairs become suddenly of larger size (Fig. 5 end of left and right arms, Fig. 6 end of region A, and Fig. 7 end of region F).

2. There is a gradient in stainability of the fibrilla pairs. The fibrilla pairs are deeply stained on both sides of the kinetochore and gradually

become weakly stained towards the ends. At the same time, at rather regular intervals in the chromosome body, there appear fibrilla pairs that are more weakly stained than the adjacent ones. This is a phenomenon, distinct from the general decrease in stainability of the fibrillae, which has already been studied in great detail in rye (LIMA-DE-FARIA, 1952b section VI, 3).

3. There is a gradient in the thickness of the fibrilla pairs. The fibrilla pairs are thick on both sides of the kinetochore and gradually become thinner towards the ends. This decrease in thickness of the fibrillae is independent of the decrease in chromomere size. From the pachytene analysis carried out in rye (LIMA-DE-FARIA, 1952b) it could be ascertained that the thickness of the fibrillae varies independently of the size of the chromomeres. In some of the ends of the pachytene chromosomes of rye, the fibrilla pair that unites the large chromomere pair of the knob formation with the last small chromomere pair of the thin distal region is extremely thin in some cases, in other cases it has the average thickness or is quite thick (compare subdivisions 14 BC, 15 AB, 22 AB, 29 AB, 35 BC with 7 BC, 8 AB, 36 AB, 43 AB in the chromosome maps of LIMA-DE-FARIA, 1952b).

4. These gradients are found in all the fifteen chromosomes of the complement. An inspection of many cells always showed the chromosomes with the appearance just described. The chromosomes of *Agapanthus* are difficult to identify at pachytene for two reasons: a) they do not possess conspicuous chromomere differentiations, such as knob formations, and b) there is a series of intermediate chromosome sizes between the smallest chromosomes and the largest ones. BELLING (1928b) pictured at pachytene a cell in which he could follow the whole chromosome complement of *Agapanthus umbellatus*, and in which the fifteen kinetochoric regions were easily distinguishable. The comparison of Fig. 3 of his paper with the analysis here carried out reveals that the three gradients originate on both sides of the kinetochore in all the fifteen chromosomes of the complement and arrange themselves along the arms in the way described here.

5. The three gradients follow each other rather closely, as may be seen, for instance, in the long arm of the nucleolar chromosome (Fig. 5, D E F). The chromomeres found at the distal regions (the last or two last pairs excepted) are so small that they are near the limit of microscopical resolution. The stainability of the fibrillae is, too, very weak in these regions. The fibrillae are rather thin in the distal region but they have not, however, reached their extreme degree of thinness. Thus, the gradients in chromomere size and stainability follow each other closely. The gradient in fibrilla thickness follows the first two gradients closely but not in so strictly proportional a manner.

6. The variation of the gradients at pachytene.

1. A comparison between arms of different sizes shows that in long arms the rate of decrease in chromomere size, stainability and thickness of the fibrillae is much slower than in short arms. Compare for instance the long and the short arms of the nucleolar chromosome (Fig. 5).

2. As at middle prophase II, there is not only a slower rate of decrease of these three entities in long arms than in short arms, but this rate of decrease is adapted to the distance at which the ends are found from the kinetochores. At pachytene, also, the gradients do not finish in the middle of the arm or elsewhere, being followed after by an irregular chromomere size, or irregular stainability or thickness of the fibrillae, but instead the gradients just finish at the ends (in some arms the last or two last chromomeres excepted) irrespective of the arm length. At the distal regions of the arms the chromomeres are of the smallest possible size — chromomeres that are near the limit of microscopical resolution. The fibrillae have, too, a very weak stainability. If it were weaker they would become nearly, or quite invisible. As mentioned above, the thickness of the fibrillae is not, in these regions, just at its limit, but they are very thin.

3. At middle prophase II in the two smallest arms the decrease in stainability of the fibrillae and in chromomere size was not sufficiently abrupt to finish at the end of the arms in chromomeres of the smallest possible size and in fibrillae of the weakest stainability. Full information about the behaviour of the gradient in these particularly small arms could not be obtained at pachytene in the present study. However, in three species of *Fritillaria* (*F. Eggeri*, *F. imperialis* and *F. verticillata*) where at pachytene a similar gradient in chromomere size is present (although it has not been described as such) it can be seen in Figs. 7, 8 and 9 of DARLINGTON's paper (1935) that the very short arms of some of the chromosomes of these species exhibit the same phenomenon observed here at middle prophase II. Whereas in the long arms of the chromosomes of these species the decrease of chromomere size is adapted to the distance of the ends from the kinetochores, in the very short arms (which have in these three figures respectively 11, 5 and 3 large chromomere pairs) the chromomeres do not decrease abruptly in size but all keep approximately the same magnitude.

4. The nucleolar organizing region is the only region of the nucleolar chromosome (Fig. 5) where the gradients are disturbed. As the kinetochore, this region appears composed of two weakly stained fibrilla pairs separated by a small chromomere pair. As at middle prophase II, the gradients in the remaining part of the left arm are not disturbed by the presence of this region.

5. At pachytene, as at middle prophase II, when the length of the arm increases the adjustment of the gradients to the longer distance between the kinetochore and the ends results in an elongation of the three main regions of each arm. As an analysis of the whole complement of *Agapanthus umbellatus* was not carried out at pachytene in the present study, definite information about the variation of these regions cannot be given for this species. However, in rye, where an analysis of the whole chromosome complement was carried out at pachytene, there are data available on this phenomenon which are gathered in Table 2. A graphic representation of these data is found in Figs. 8a and b which were made in the same way as Figs. 4a and b. The following conclusions can be drawn from Fig. 8a. 1. The limits of the regions with average stainability have a marked tendency to distribute themselves along a common line (a straight line was drawn only for the sake of simplicity). 2. The limits of the deeply stained regions have also a marked tendency to distribute themselves along a common line. 3. The inclination of these two lines is such that the increase in arm length is accompanied by a corresponding increase in the length of the three arm regions (the arm attached to the nucleolus excepted). 4. As in rye, very small arms are missing, it can not be easily decided whether these two lines pass through the origin or not, but the evidence from the pachytene chromosomes of *Fritillaria* suggests that — as at prophase II in *Agapanthus* — they most probably do not. 5. The ends of the arms are distributed along a line that by construction is a straight line and has an inclination of forty-five degrees. It can be seen that the knob formations — as they happen to have a distal position (the one at the nucleolar organizing region excepted) — are distributed along a line which apparently coincides with this one. As there are no very small

Table 2. Length of the proximal deeply stained regions, of the median regions with average stainability and of the distal weakly stained regions (including the knob formations when these are present) in the 14 arms of the seven chromosomes of the normal complement of *Secale cereale* at pachytene. Data extracted from Table 4 of the author's paper (1952b). Each unit corresponds to 0.4 micra.

Chro- mosome	n	Left arm				Reference number	Right arm				Reference number
		Distal region	Median region	Proxi- mal region	Total		Proxi- mal region	Median region	Distal region	Total	
I	4	25.2	36.0	26.7	88.0	6	40.2	49.7	30.0	120.0	13
II	6	21.4	45.0	27.8	94.3	8	42.1	39.3	27.4	109.0	11
III	5	20.2	36.6	23.8	80.6	4	25.6	50.0	32.2	107.8	10
IV	6	21.6	47.3	25.1	94.1	7	28.8	32.3	25.6	86.8	5
V	5	23.0	10.2+8.0	17.4	58.6	3	29.6	45.4	26.2	101.2	9
VI	4	15.4	16.7	23.7	55.0	2	26.7	49.7	39.7	116.2	12
VII	3	16.0	16.0	20.0	52.0	1	28.0	78.0	33.0	139.0	14

arms in rye, it cannot be decided whether the knob formation line will pass through the origin or not. Figs. 8b and 4b have a very striking similarity in what concerns the rate of increase of the three arm regions in relation to the increase in the distance of the ends from the kinetochores. The ratio between the three different regions of the longest arm (14) and the shortest arm (1) is 1.4 for the deeply stained regions,

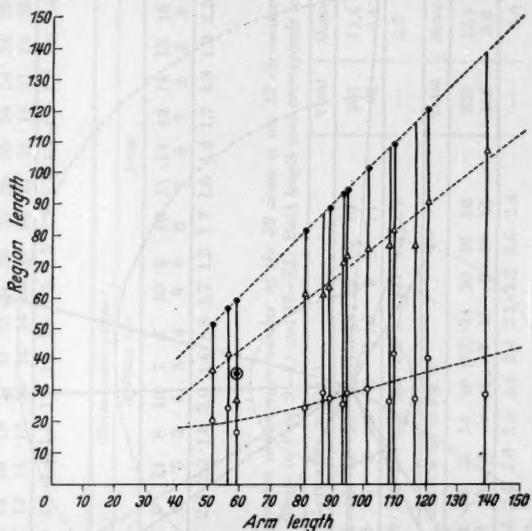


Fig. 8a. *Secale cereale*, pachytene. Length of the different arm regions and position of knob formations. Graphic representation of the data found in Table 2. Legend: open circles = limits of the deeply stained regions; triangles = limits of the regions with average stainability; limits of the arms = limits of weakly stained regions; solid circles = knob formations; large circle = nucleolar organizing region. Each unit corresponds to 0.4 micra. For further explanation see text.

4.8 for the median regions with average stainability and 2.0 for the weakly stained regions including the knob formations when these are present (data extracted from Table 2). Thus, at pachytene, as at middle prophase II the deeply stained regions are those that increase less, whereas the regions with average stainability are those that increase most. Arm number three is the left arm of the nucleolar chromosome where the nucleolar organizing region is situated (in Fig. 8b represented by an open circle). It can be seen from the graph that this region apparently affects the behaviour of the gradient. The proximal region with large chromomeres and the median region with medium size chromomeres are very reduced in length, the chromomeres attaining

the smallest size in the neighbourhood of the nucleolar organizing region and after that keeping an irregular size (cf. the map of chromosome V in LIMA-DE-FARIA, 1952b). A comparison with Fig. 4b shows that this is not the case in arm 12 A which bears the nucleolar organizing region in *Agapanthus*.

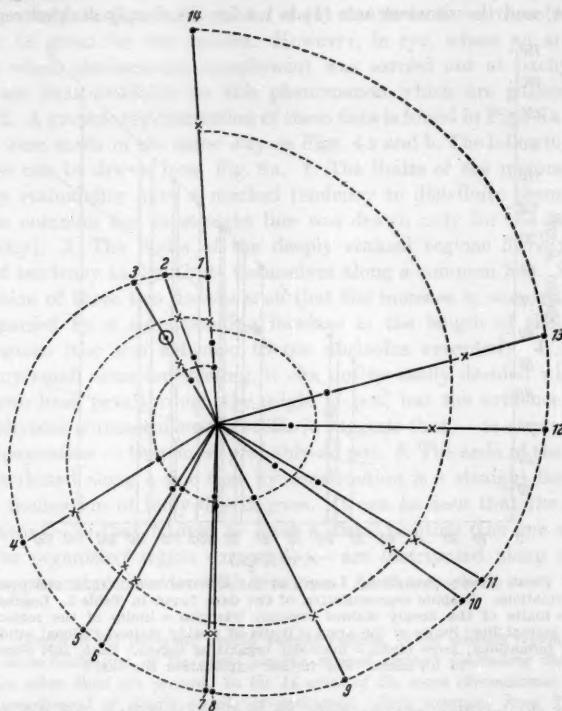


Fig. 8b. *Secale cereale*, pachytene. Graphic representation of the data found in Table 2. Legend: point of origin of the spirals = most proximal part of each arm; large dots (inner spiral) = limits of the deeply stained regions; crosses = limits of the regions with average stainability; large dots (outer spiral) = limits of weakly stained regions and of arms; open circle = nucleolar organizing region (arm 3). The increase of the distance of the ends from the centromeres is accompanied by a corresponding increase of the three arm regions. As a result the same type of pattern is maintained irrespective of arm length (arm 3 excepted).

7. Chromosome condensation between middle prophase II and metaphase II.

As prophase II proceeds the condensation of the chromosomes increases, and finally the chromosomes assume the compact appearance that is normally found at metaphase II.

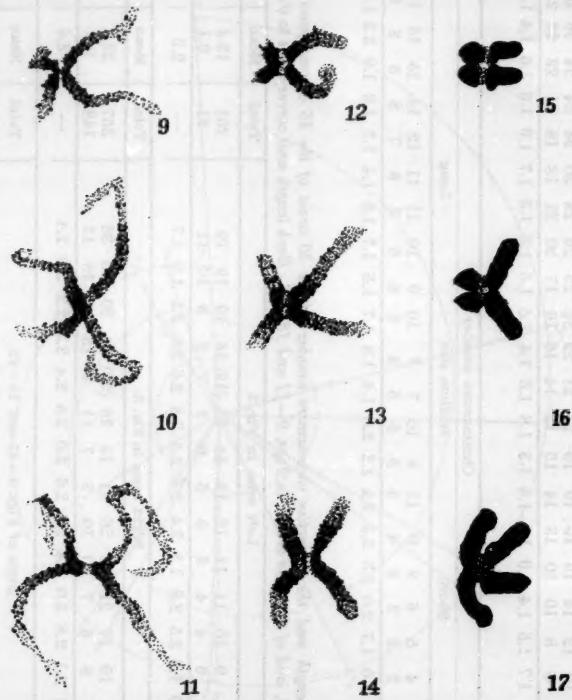
Table 3. *A. umbellatus*. Length and the respective chromosome number of short, medium size and long arms at middle prophase II and of arms of corresponding lengths at late prophase II (see Figs. 9-11, 18-23 and 12-14, 24-29). Each length unit corresponds to 0.4 micra.

Arms	Length												Total	Mean							
	Medium size						Long														
	Short			Medium			Length			Medium size											
Middle prophase II	8	9	9	10	12	14	19	19	19	21	22	24	25	26	30	34	36	40	513	22.3	
Late prophase II.	6	7	6	8	10	10	13	14	15	12	14	16	16	17	20	21	18	21	23	344	15.0
Ratio	1.6	1.5	1.3	1.7	1.5	1.4	1.9	1.5	1.4	1.5	1.4	1.5	1.5	1.3	1.3	1.7	1.9	1.6	1.5	1.4	—
																				1.5	± 0.04
Arms	Chromomere number												Total	Mean							
	Medium size						Long														
	Short			Medium			Length			Medium size											
Middle prophase II	4	4	3	4	5	6	9	9	11	8	10	7	7	10	9	10	11	12	14	15	212
Late prophase II.	1	2	2	2	3	3	4	4	5	5	5	4	6	6	6	7	8	7	8	8	117
Ratio	4.0	2.0	1.5	2.0	1.7	2.0	2.3	2.3	2.2	1.6	2.0	1.4	1.8	1.7	1.5	1.7	1.6	1.4	1.7	1.8	—
																				1.8	± 0.11

Table 4. Middle prophase II. Length and the respective chromomere number of the 15 chromosomes of *A. umbellatus* drawn in Figs. 1 and 3, and of the arms drawn in Figs. 9-11 and 18-23. Each length unit corresponds to 0.4 micra.

Left arms in FIG. 3												Right arms in FIG. 3.												Arms of FIGS. 9—11 and 18—23.																													
Length			8			9			10			11			12			13			14			15			16			17			18			19			19			Total			Mean								
Chromosome number.			3			4			6			4			5			5			6			5			7			6			9			10			11			91			13.4								
Ratio.			2.0			2.0			1.5			2.5			2.8			1.8			2.4			2.6			2.3			2.8			3.0			2.1			1.9			1.7			—			2.2					
Length			17			22			19			17			21			24			26			21			14			28			(22)			34			20			36			36			357			23.8		
Chromosome number.			7			7			9			6			7			10			10			8			7			11			9			15			9			18			15			148			9.9		
Ratio.			2.4			3.1			2.1			2.8			3.0			2.4			2.6			2.0			2.5			2.4			2.3			2.2			2.0			2.4			—			2.4					
Length			9			9			12			19			25			21			30			34			32			40			284			23.7			842			20.0											
Chromosome number.			3			4			5			8			9			9			10			11			12			14			16			115			9.6			354			8.4								
Ratio.			3.0			2.3			2.4			2.4			2.1			2.8			2.1			2.7			2.8			2.4			2.1			2.7			—			2.5			—			+2.4					

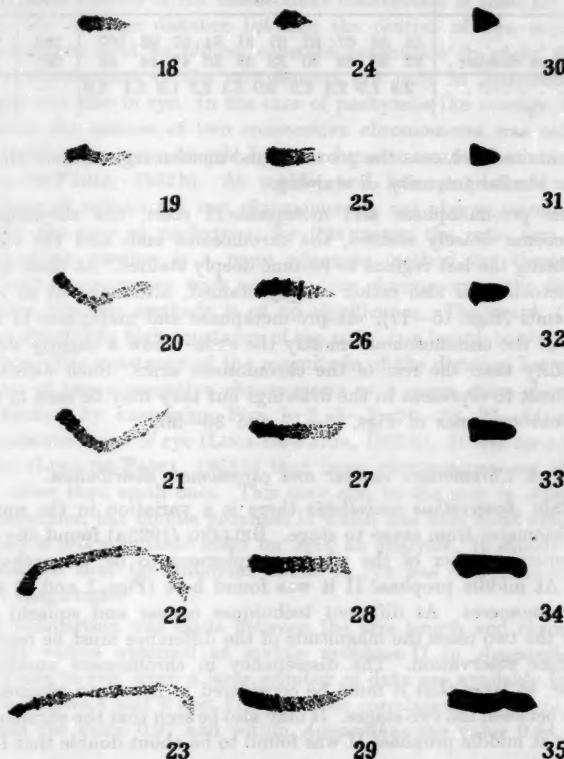
From Figs. 12—14 and 24—29 it may be seen that the condensation proceeds at late prophase II from the kinetochore towards the ends as it did at the preceding stage. The condensation process continues to depend apparently on the distance of the ends from the kinetochores, since the size of the deeply stained regions, of the regions with average



Figs. 9—17. *Agapanthus umbellatus*. Figs. 9—11. Middle prophase II. — Fig. 9. Chromosome with short and medium size arms. — Fig. 10. Chromosome with medium size and long arms. — Fig. 11. Chromosome with only long arms. — Figs. 12—17. Chromosomes with arms of corresponding sizes at late prophase II (Figs. 12—14) and at pro-metaphase or metaphase II (Figs. 15—17). All camera lucida drawings. $\times 2250$.

stainability and weakly stained regions continues to be a function of the arm length. If one compares the two larger arms (Figs. 28 and 29) with the arm represented in Fig. 25 it may be seen that whereas the deeply stained region occupies only one fibrilla pair in this arm (considering the two half-chromatids that constitute each chromatid), in the long arms it occupies two. The median region with average staining

intensity also extends over one fibrilla pair in the short arm whereas in the long arms it extends over three fibrilla pairs. The same holds true for the distal weakly stained region of these same arms. In the



Figs. 18-35. *Agapanthus umbellatus*. Figs. 18-23. Series of chromosome arms representative of the different arm lengths found among the chromosomes of the complement at middle prophase II (only one chromatid is drawn). — Figs. 24-35. Arms of corresponding lengths at late prophase II (Figs. 24-29) and at pro-metaphase or metaphase II (Figs. 30-35). All camera lucida drawings. $\times 2250$.

shortest arms (Figs. 24 and 12) this proportionality does not hold, and as a consequence they become earlier more densely stained than the other arms. As a consequence the gradient disappears earlier in the short arms than in the long arms. From Fig. 14 which is at a slightly more advanced stage than the other prophase chromosomes here drawn, it may be seen that the ends of the arms are the last regions to become

Table 5. Length and the respective chromomere number of ten different arms of the pachytene chromosomes of *Agapanthus umbellatus*. Each length unit corresponds to 0.4 micra.

	Arms										Total	Mean
Length	52	58	67	67	67	81	84	87	93	107	763	76.3
Chromomere number .	22	30	28	30	33	38	36	47	44	54	362	36.2
Ratio	2.4	1.9	2.4	2.2	2.0	2.1	2.3	1.9	2.1	2.0	—	2.1 ±0.06

densely stained, whereas the proximal and median regions have already a rather similar intensity of staining.

When pro-metaphase and metaphase II start, the chromosomes have become densely stained, the chromosome ends and the kinetochores being the last regions to become deeply stained. At these stages the kinetochore is also rather deeply stained, although not so much as the ends (Figs. 15—17). At pro-metaphase and metaphase II some regions of the chromosomes—mostly the ends—show a slightly weaker stainability than the rest of the chromosome arms. Such differences are difficult to represent in the drawings but they may be seen in some of the chromosomes of Figs. 15—17 and 30—35.

8. Chromomere number and chromomere distribution.

Within *Agapanthus umbellatus* there is a variation in the number of chromomeres from stage to stage. BELLING (1928a) found the total chromomere number of the whole complement to be, at pachytene, 1,600. At middle prophase II it was found here (Figs. 1 and 3) to be 239 chromomeres. As different techniques (smear and squash) were used in the two cases the magnitude of the difference must be regarded with some reservation. The discrepancy in chromomere number is, however, so large that it must be considered to reveal an obvious difference between the two stages. It may also be seen that the chromomere number at middle prophase II was found to be about double that found

Table 6. Length and the respective chromomere number of the arms of the seven Data extracted from tables 4 and 5 of the author's paper (1952b). Each length unit

Arm	L. A. s. t.	L. A. VII	L. A. VI	L. A. V	R. A. s. t.	L. A. III	R. A. IV
n	11	3	4	5	11	5	6
Average length	14.9	52.0	56.0	58.6	68.6	80.6	86.8
Average chromomere number	7.5	27.7	27.8	32.0	31.8	41.4	42.8
Ratio of arm length to chromomere number	2.0	1.9	2.0	1.8	2.2	1.9	2.0

at late prophase II, the ratio of the two mean values for chromosome arms representative of the various lengths at these two stages being 1.8 (Table 3).

Another feature of the chromomere distribution is that, for a given stage, the average distance between the centres of two consecutive chromomeres is of an almost constant magnitude in every arm and every chromosome of the complement not only in *Agapanthus umbellatus* but also in rye. In the case of pachytene the average distance between the centres of two consecutive chromomeres was calculated by dividing the arm length by the chromomere number minus one (LIMA-DE-FARIA, 1952b). At middle and late prophase II and at prophase of mitosis the last chromomere is not always terminal as is usually the case at pachytene; for this reason the ratio arm length: chromomere number is a more adequate method for these stages. For long chromosomes, such as pachytene chromosomes, the difference between the two methods is of no significance. The graph (Fig. 36) shows clearly the high constancy of the ratio, arm length to chromomere number. The constancy of the magnitude of the distance between the centres of two consecutive chromomeres at a given stage should also be checked by examining Figs. 1, 3, 5-7, 24-29, 37-44 and the chromosome maps of rye (LIMA-DE-FARIA, 1952b). It was found before in rye (LIMA-DE-FARIA, 1952b) that large chromomeres are closer to each other than small ones. This may also be the case in *Agapanthus* chromosomes, but middle prophase II which was here most extensively studied is not a suitable stage for such an analysis. It should also be emphasized that the difference found in rye was of a comparatively small magnitude.

A comparison was made between the arm length and chromomere number values obtained at middle prophase II in *Agapanthus* and pachytene in rye, since a large number of data are available for these stages (Tables 4 and 6 and Fig. 36). The correlation coefficient within rye has the value 0.97 and within *Agapanthus* the value 0.94. The t

chromosomes of the normal complement and the standard fragment of Secale cereale. corresponds to 0.4 micra. L. A. left arm, R. A. right arm, s. f. standard fragment.

L. A. I	L. A. IV	L. A. II	R. A. V	R. A. III	R. A. II	R. A. VI	R. A. I	R. A. VII	Total	Mean
4 88.0	6 94.1	6 94.3	5 101.2	5 107.8	6 109.0	4 116.2	4 120.0	3 139.0	88 1387.1	5.5 86.7
44.3	43.3	45.3	50.2	46.6	54.3	52.5	55.3	71.3	674.1	42.1
2.0	2.2	2.1	2.0	2.3	2.0	2.2	2.2	1.9	—	2.1 ±0.04

Table 7. *A. umbellatus*. Length and the respective chromomere number of short, medium size and long arms at late prophase II (see Figs. 12-14 and 24-29). Each length unit corresponds to 0.4 micra.

Arms	Medium size												Total	Mean											
	Short						Long																		
Length	5	6	7	6	8	10	10	13	14	15	12	14	16	16	17	20	21	18	21	23	26	28	344	15.0	
Chromomere number	1	2	2	3	3	4	4	5	5	5	5	4	6	6	6	7	8	7	8	8	8	117	5.1		
Ratio	5.0	3.0	3.5	3.0	2.7	3.3	2.5	3.3	2.8	3.0	2.4	2.8	4.0	2.7	2.8	3.3	3.0	2.3	2.6	2.6	2.9	3.3	3.5	—	2.9

Table 8. *A. umbellatus*. Length and the respective chromomere number of twenty different chromosomes of representative lengths at middle-late prophase of mitosis (see Figs. 37-44). Each length unit corresponds to 0.4 micra.

Preparation	Medium size												Total	Mean									
	Short						Long																
Chromosome	4	4	3	1	4	4	2	4	4	4	1	3	4	2	4	4	1	3	4	4	4	4	—
Chromosome length	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	20	24.9	—
Chromomere number	50	38	35	29	27	27	25	24	24	22	22	22	21	18	17	16	14	13	497	181	9.1	—	
Ratio	19	12	12	11	9	11	10	8	10	9	10	8	7	6	8	6	6	5	—	2.7	2.7	2.7	2.7

values are respectively 40.4 and 17.1 with a $P < 0.001$ in both cases. Both correlation coefficients are very close to the maximum value 1.00 (BONNIER and TEDIN, 1940). This means that the pairs of variates are very closely distributed along the regression lines. The regression coefficients within species in rye and *Agapanthus* are respectively 0.45 and 0.40, which means that to an increase in a little more than two length units (that is 0.8 micra) there is a corresponding average increase of one chromomere in both rye and *Agapanthus*. This also means that the average distance between the centres of two consecutive chromomeres was found to be circa one micron in both cases¹.

Subsequent evidence pertaining to the variation of the chromomere number from stage to stage is furnished by Fig. 36 and Tables 4-8. In four different stages of *Agapanthus*: pachytene, middle and late prophase II of meiosis, and prophase of mitosis, the mean of the ratio between arm or chromosome length and chromomere number is

¹ I am indebted to Dr. A. HAGBERG for a discussion of these results.

of a similar magnitude. The values of this average ratio were found to be for these stages respectively 2.1, 2.4, 2.9 and 2.7 (Tables 5, 4, 7 and 8). All the variate pairs of these stages lie distributed along a common

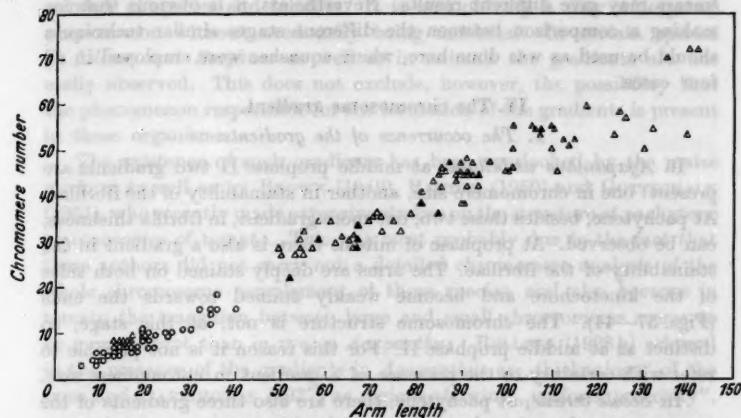
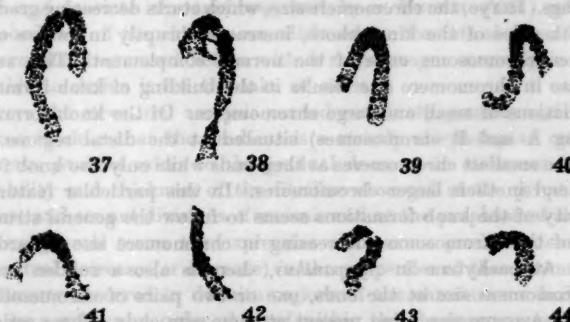


Fig. 36. The relationship between arm length and chromomere number at middle prophase of the first and second divisions of meiosis. Legend: open circles = middle prophase II, *Agapanthus*; shaded triangles = pachytene, *Agapanthus*; unshaded triangles = pachytene, rye. Data extracted from Tables 4, 5 and 6 (the original data). Each length unit corresponds to 0.4 micra.



Figs. 37-44. *Agapanthus umbellatus*. Camera lucida drawings of chromosomes of representative lengths at middle-late prophase of mitosis. $\times 2250$. Figs. 37-44 correspond respectively to numbers 2, 4, 6, 7, 11, 17, 14 and 19 in Table 8.

straight line as in Fig. 36. This means that a clear linear relationship exists between arm length and chromomere number. Hence, the variation in arm length exhibited at different stages by the different chromosomes of the same complement implies a variation of the chromomere

number of the same arms. It should be noticed that the use of slightly different techniques does not seem to alter the value of this ratio. It may be, however, that a very different technique such as sections or smears may give different results. Nevertheless, it is obvious that for making a comparison between the different stages similar techniques should be used as was done here, where squashes were employed in all four cases.

IV. The chromosome gradient.

1. The occurrence of the gradients.

In *Agapanthus umbellatus* at middle prophase II two gradients are present: one in chromomere size, another in stainability of the fibrillae. At pachytene, besides these two, one more gradient, in fibrilla thickness, can be observed. At prophase of mitosis there is also a gradient in the stainability of the fibrillae. The arms are deeply stained on both sides of the kinetochore and become weakly stained towards the ends (Figs. 37—44). The chromosome structure is not, at this stage, so distinct as at middle prophase II. For this reason it is not possible to refer with certainty to the presence of a gradient in chromomere size.

In *Secale cereale*, at pachytene, there are also three gradients of the same type as those found at pachytene in *Agapanthus*, as can be seen by an analysis of the chromosome maps of this plant (LIMA-DE-FARIA, 1952 b). The decrease in stainability of the fibrillae is not easily observed in the chromosome maps but can be seen quite well in the camera lucida drawings. In rye, the chromomere size, which starts decreasing gradually on both sides of the kinetochore, increases abruptly in twelve of the fourteen chromosome ends of the normal complement. This sudden increase in chromomere size results in the building of knob formations or seriations of small and large chromomeres. Of the knob formations (among A and B chromosomes) situated at the distal regions, nine have the smallest chromomeres at their ends while only two knob formations end in their larger chromomeres. In this particular feature the majority of the knob formations seems to follow the general structural plan of the chromosome—decreasing in chromomere size towards the ends. At pachytene in *Agapanthus*, there is also a sudden increase in chromomere size at the ends, one or two pairs of chromomeres of large or average size being present at some arm ends. These seriations show also, as in rye, a tendency to have a coned shape and to have their smallest chromomeres at the most distal point of the chromosome. This indicates the formation of a small secondary gradient.

Similar gradients to those described in *Agapanthus* and *Secale* are present at pachytene in other plant species such as *Kniphofia aloides*, *Fritillaria* (several species), *Zea mays*, *Solanum lycopersicum*, *Gazania rigens*, *Passiflora* sp., etc. This phenomenon is thus present in the

Liliaceae, *Gramineae*, *Solanaceae*, *Compositae*, *Passifloraceae*, representing both Monocotyledons and Dicotyledons. I have already evidence suggesting that this phenomenon may also be observed in a much larger number of species and families. It is undoubtedly a very widespread phenomenon without necessarily being universal. In certain species of *Lilium* and *Sorghum* as well as in animals the gradients are not easily observed. This does not exclude, however, the possibility that the phenomenon responsible for the formation of the gradients is present in these organisms.

The existence of such gradients has been overlooked by the maize workers as well as by BROWN (1949), BARTON (1950) and GOTTSCHALK (1951), who recently made extensive studies on the structure of pachytene chromosomes of tomato. This was most probably due to the fact that these authors did not carry out a detailed chromomere analysis of the whole chromosome complement of these species, and also because in tomato the transition between large and small chromomeres seems to be more abrupt than in rye or *Agapanthus*. BELLING (1928 b) referred to the presence of the gradients in *Agapanthus* as „thickenings“ of the arms and DARLINGTON (1937) as regions showing „uniform precocity“.

2. Definition of chromosome gradient.

The term gradient has been used before by LONGLEY (1939 and 1941) in connection with the particular distribution of knob formations in maize and teosinte chromosomes, and by v. UBISCH (1951) referring to a condition of the chromosome deduced on theoretical grounds. As the term has been used before with a rather vague meaning it seems desirable to define it for the sake of clarity.

From the structural analysis carried out in *Agapanthus* and *Secale* it becomes clear that the gradient is a strictly *morphological* concept. The term *gradient* refers to the gradual decrease in chromomere size, stainability and thickness of the fibrillae observed at the prophase of the first and second divisions of meiosis and at the prophase of mitosis. In more general terms the expression *chromosome gradient* stands for the gradual decrease (or increase) in the properties of the chromosome constituents observed in definite regions of the chromosome body. It refers to a system of order *observed* within the chromosome body and does not comprise any other implications that may be or are necessarily connected with the gradient concept.

V. The chromosome field.

Of more significance than the gradients themselves is the observed fact that they exhibit a variation of a defined form. This variation bears definite relations to specific regions of the chromosome body.

The data gathered in rye at pachytene (LIMA-DE-FARIA, 1952 b), enlarged by the information obtained here in *Agapanthus* at this same stage and at middle prophase II, furnish the following evidence of such a variation.

1. The function of the various chromosome regions.

Kinetochores.—As pointed out before (LIMA-DE-FARIA, 1952 a) three sources of evidence reveal that the formation of the gradients depends primarily on the properties of the kinetochore rather than on the properties of the chromosome arms that exhibit them.

a) The formation of the gradients is independent of the particular genetic constitution of the arms of the chromosomes that carry them. The gradients are exhibited in rye as well as in *Agapanthus* by every chromosome of the normal complement of the species and for this reason cannot easily be considered to depend for their formation on the particular genetic constitution of the arms of each chromosome. This does not mean that the genetic constitution of each arm of these species may not favour the appearance or expression of the gradients. DARLINGTON (1937) had already pointed out that such a differentiation „must be due to the position of the precocious parts in relation to the centromere“, and HEITZ (1932) has since a long time called the attention to the distribution of heterochromatic regions at corresponding places in non homologous somatic chromosomes; a phenomenon called by him „äquikolare Heterochromatie“.

b) The gradients are not only independent of the particular genetic constitution of the arms of the chromosome carrying them, but are also a phenomenon independent of the particular genetic constitution of the species carrying them, because similar gradients are found in the chromosomes of such unrelated species as *Secale cereale*, *Agapanthus umbellatus*, *Solanum lycopersicum*, *Gazania rigens* and others. This, again, does not mean that the genetic constitution of these species may not favour the appearance or the expression of the gradients.

c) Instead, there is a feature common to all the arms of each species and to the chromosomes of the different species. All the gradients observed originate *on both sides of the kinetochore* in every chromosome of rye at pachytene, and in every chromosome of *Agapanthus* at both pachytene and middle prophase II. The same is true for other species.

Chromosome ends.—Whereas the kinetochore appears to be primarily responsible for the formation of the gradients, the chromosome ends appear to be the regions primarily responsible for the variation of their shape. Four sources of evidence reveal that the rate of decrease in the properties of the various constituents of the gradients bears a definite relation to the position of the ends.

a) The observed gradients finish at the arm ends and not in the middle of the arms or elsewhere, irrespective of arm length, in twenty-eight of the thirty arms of *Agapanthus umbellatus* at middle prophase II, and in thirteen of the fourteen arms of *Secale cereale* at pachytene. Arms with a deviating pattern are 1 B and 2 B in Fig. 4 b, and arm 3 in Fig. 8 b (see below).

b) The lengths of the deeply stained regions, the regions of average stainability and the weakly stained regions (including the knob formations when these are present) bear a definite relation to the distance between the kinetochores and the ends. Figs. 4a, 4b, 8a and 8b clearly demonstrate the relationship between the increase in length of these regions and the increase in distance of the ends from the kinetochores. Arms with a deviating pattern are the same as mentioned above.

c) The deviating pattern of these arms helps us to understand better this phenomenon. When the length of the arm approaches its smallest magnitude (3—4 chromomere pairs at middle prophase II or 3—11 chromomere pairs at pachytene) both in *Agapanthus* (arms 1 B and 2 B of Figs. 3 and 4 b) and *Fritillaria* (see above), the size of the chromomeres does not decrease so quickly or they just keep a rather uniform size. This means that the arm length by itself cannot be supposed to be primarily responsible for the variation in shape of the gradients. Such a result reinforces the previous evidence which strongly suggests that the distance at which the ends are found from the kinetochores is the controlling factor of such a variation. Ends that are too close to the kinetochore would lack the necessary independence to affect the shape of the gradients to the same extent as when they are situated at longer distances.

d) It could be supposed that the variation in the shape of the gradients is attributable solely to the variation in the potentiality of the kinetochore from chromosome to chromosome. It can be seen, however, that such a supposition is inconsistent with the fact that *within* the same chromosome, in the case of chromosomes with arms of different lengths, the gradients vary quite differently on both sides of the kinetochore (Fig. 3, see for instance chromosomes 5, 10, 14, 15).

Knob formations and adjacent regions.—In *Agapanthus umbellatus* there are no knob formations at prophase II and at pachytene there were only found conspicuous seriations constituted by one or two chromomere pairs at the ends of some arms. In rye, most knob formations are also found at the chromosome ends. Hence, in these cases it is very difficult to separate the role that a knob formation may play in affecting the gradients from that of the chromosome end in which it is situated. There is, however, in rye a knob formation situated in the middle of the left arm of chromosome V (Figs. 8a and b, arm 3), and knob

formations in maize have also sub-median or sub-terminal positions (cf. RHOADES, 1950).

The comparison of the left arm of chromosome V of rye with any arm of the same length, as, for instance, the left arm of chromosome VI, shows that although these two arms have approximately the same length, the rate of decrease in the properties of the constituents of the gradients is quite different in the left arm of chromosome V from that in the left arm of chromosome VI (LIMA-DE-FARIA, 1952b). An inspection of the gradients of the left arm of chromosome V shows that the existence of the intercalary knob formation and its adjacent weakly stained regions—belonging to the nucleolar organizing region—is the apparent determining factor of the abrupt decrease in the properties of the constituents of the gradients in this arm.

The appearance of the gradients in this region of the left arm of chromosome V furnishes clear evidence that *other regions than the ends* apparently affect the shape of the gradients; it does not reveal, however, whether it is the knob formation or its adjacent weakly stained regions which play the primary role in this process.

Information about such a distinction is furnished by the works of LONGLEY (1939 and 1941). LONGLEY found that there is at pachytene of both maize and teosinte a region in each chromosome arm where the building of knob formations is favoured, the frequency of occurrence of a knob formation depending upon its proximity to this most favourable position. Hence, the building of knob formations apparently depends on the activity of a building zone in the chromosome body which appears to be a weakly stained region. The fact that knob formations in rye have a tendency to exhibit a coned shape (as in *Agapanthus* the terminal seriations do)—which indicates the formation of a small secondary gradient—is also an indication that the building of knob formations in rye is apparently dependent on the activity of these adjacent weakly stained regions. The evidence available at present thus suggests that the weakly stained regions accompanying the knob formations may play a role at least as important as the knob formations, but the relative importance of these two regions cannot yet be decided.

Recurrent seriations.—In rye (LIMA-DE-FARIA, 1952b), the general decrease in chromomere size and stainability of the fibrillae that takes place between both sides of the kinetochore and the ends (excluding the knob formations) is not even. It is interrupted at *rather regular intervals* by a type of seriation constituted, in most cases, by a fibrilla pair more weakly stained than the adjacent ones, accompanied on one or both sides by a chromomere pair of larger size than the adjacent ones. These seriations constitute natural landmarks in the chromosome body which divide the chromosome arms into segments of approxi-

mately the same length. They represent regions of the chromosome where the gradients are *locally disturbed*, without interfering with their general distribution along the arms.

Chromomeres.—The observations described above reveal: 1. that the chromomere number of the same chromosomes varies within *Agapanthus umbellatus* from stage to stage, 2. that the chromomere pairs dispose themselves along the chromosome at distances that are of similar magnitude at the different stages, and 3. that the pattern of the chromosomes is of the same fundamental type at different stages (Figs. 45—47). It could be supposed that this reduction in the chromomere number, from stage to stage, was the result of the simple approximation and fusion of the preexisting chromomere pairs. The situation is, however, not so simple as that, since the distance between the chromomere pairs keeps most constant from stage to stage.

The chromomere pairs that are seen at late prophase II are larger and more deeply stained than those found at middle prophase II (compare the first and second columns of Figs. 18—29). Moreover, as the chromosome body is now on the whole more deeply stained and of a more diffuse aspect than at the previous stage, the smaller chromomeres that were present at middle prophase II may not now be



FIGS. 45—47. *Agapanthus umbellatus*. Chromosomes with similar arm ratio and approximately corresponding length at diakinesis (top), middle prophase II (middle) and middle-late prophase of mitosis (bottom). The same fundamental type of pattern may be seen at the three different stages. FIG. 45 redrawn from FIG. 7; FIG. 46 from FIG. 3 (No 14) and FIG. 47 from FIG. 3.

easily distinguishable. For this reason, of the chromomeres found at middle prophase *only those that have continued to condense heavily* can now be seen at late prophase II. These observations are most easily interpreted by assuming that when, at a given stage, a region genetically able to produce a fibrilla or a chromomere comes—by means of the „spiralization“ and „despiralization“ cycle—into a position favourable for the *production* of one of these formations, a fibrilla or a chromomere is thus formed.

Subsequently the *appearance* of a chromomere as well as that of a fibrilla is determined not only by its genetic constitution and nuclear environment but is also apparently dependent on its position within the chromosome, as already shown by LIMA-DE-FARIA (1952 a and b). The fact that the same fundamental type of chromosome pattern is found at the two prophases of meiosis and at the prophase of mitosis of *Agapanthus* (Figs. 45—47) and that the length of the chromosomes is not the same at these three stages, is evidence in full agreement with these previous observations and with the experimental data confirming such a result (see below).

For their formation as well as for their appearance the chromomeres and the fibrillae are in part apparently dependent on their position within the chromosome body. At the same time the formation of a chromomere appears to interfere with the formation of another chromomere in its close vicinity, since there is, as a rule, the formation of a fibrilla of a most constant length between two consecutive chromomeres.

It should be emphasized, in this connection, that most probably the chromomeres found at the prophases of meiosis and mitosis are not strictly homologous to those observed in the polytene chromosomes of salivary glands of Diptera. The prophases of meiosis and mitosis are essentially dynamic stages, where an active condensation of the chromosomes is taking place, while in salivary glands and other tissues of the Diptera the chromosomes are in a resting stage and exhibit a considerable increase in size.

2. Definition of chromosome field.

Several main points become evident from the preceding analysis: 1. the origin of the gradients is related to a definite region of the chromosome—the kinetochore, 2. the rate of decrease in the properties of the constituents of the gradients bears a definite relation to the position of the ends, 3. not only the ends but also the knob formations and their adjacent regions appear to have an effect on the shape of the gradients, 4. particular seriations located at regular intervals in the chromosome body represent regions where the gradients are locally disturbed,

5. moreover, a fairly constant feature of the chromomeres is their spacing along the chromosome.

These facts reveal that *the system of order constituted by the chromosome gradients varies in a defined form* under the apparent influence of specialized regions of the chromosome body. Such a behaviour of the gradients constitutes what is called in experimental embryology a *field effect* (NEEDHAM, 1942). As we are dealing here with a similar, although not necessarily identical phenomenon, the same term can conveniently be used at the chromosome level. GOLDSCHMIDT (1951) was led to suggest the existence of a „field of action“ within the chromosome, without, however, stating its exact meaning. The results described here in *Agapanthus* and *Secale* furnish sufficient evidence to permit giving this concept a quite concrete form.

The expression *chromosome field* refers to the fact that the *variation observed within the gradients takes place in such a way that the properties exhibited by certain entities in one part of the chromosome bear a definite relation to the properties exhibited by other entities in other parts of the chromosome. These relations are such that the different entities appear to share in the formation of the chromosome pattern with unequal importance*. Whereas kinetochores appear to be primarily responsible for the formation of the gradients, chromosome ends, knob formations and their adjacent regions, recurrent seriations and chromomeres or fibrillae apparently interfere with the formation of the gradients on a successively smaller scale. Moreover,—like the embryological field—the chromosome field *can maintain its pattern when its mass is either reduced or increased*, that is to say, when the arm length decreases or increases (Figs. 3, 4a, 4b, 8a and 8b). *The same fundamental type of chromosome pattern is also maintained when the chromosomes vary in their length from stage to stage* (Figs. 45—47) and are exposed to the different physiological conditions present at these stages.

The chromosome field is a *descriptive concept*. It contains, however, the implication that a physical or chemical agent must be considered to be responsible for the interaction between the various chromosome regions and, thus, for the establishment of their equilibrium positions. Such an implication is of the same nature as that posed by position effects.

WEISS (1939) referring to the gradients found at the embryological level clearly points out that they are indicators of dynamic agents and that any activity maintained from a localized centre whether physical or chemical in nature, must decline in intensity with increasing distance from the focal point. He emphasizes that gradients of one sort or another are necessary attributes of activity.

VI. The integration of the cytological and genetic data.

Many cytological and genetic data seem to become intelligible when seen in connection with the field phenomenon, but such integration demands a longer analysis. Here will only be mentioned some of the most relevant data. Moreover, they furnish experimental evidence of the interaction between the various chromosome regions.

From crossing-over studies it was found that the two arms of each chromosome in *Drosophila* function independently of each other, the kinetochore being an inhibitor of interference. The frequency of crossing-over in any region of *Drosophila* chromosomes is also dependent on both its distance from the kinetochore and the length of the chromosome arm (MATHER, 1936). A deeper study of crossing-over accompanied by the analysis of chiasmata distribution led MATHER (1938 and 1940) to conclude that the kinetochore might be the region of the chromosome where chiasmata originate and that the positions at which crossing-over occurs are possibly related to the ends of the chromosomes. He also found chiasmata to occur in certain definite regions distributed at regular intervals along the chromosome body. His findings are in full agreement with the field phenomenon.

The concept of „telomeres“ springs from the study of rearrangements in *Drosophila*. Terminal deficiencies should be by far the commonest type of chromosome aberrations, but in reality they are very rare. Broken ends normally undergo reunion with other broken ends, and if not, the chromosomes carrying them are lost, as a rule, in subsequent generations. In other words, chromosomes that are devoid of natural ends do not survive in most cases. Subsequent work carried out by KOSHIKOV and MULLER (1935) led these authors to attribute a *bipolarity* to all internal parts of the gene string and a *unipolarity* to the free terminal genes. Thus, the end genes constitute permanent chromosome structures, distinguished from all other genes by their constantly unipolar character (MULLER, 1940). These genes have been denoted „telogenes“ and their visible bodies „telomeres“. A morphological differentiation of the chromosome ends that is in agreement with the genetic data was reported in *Drosophila* salivary gland chromosomes by WARTERS and GRIFFEN (1950), where a reference to previous similar work in *Drosophila* may be found. In rye, at pachytene (LIMA-DE-FARIA, 1952 b) the chromosome ends have also characteristic morphological features and, as in *Drosophila*, are particularly similar to kinetochores. Thus, a highly specialized behaviour and structure of the chromosome ends was revealed by these works. Of particular significance in this connection is the fact that they showed that natural ends are: 1. necessary structures for the normal functioning of the chromosomes, 2. that their behaviour is unipolar, and 3. that they resemble in their

morphological features kinetochores. Seen in the light of the findings pertaining to the field phenomenon these features become much more easily intelligible since they relate this specialized behaviour of the ends with the activity of the other chromosome regions.

Information concerning the role of kinetochores and ends in the manifestation of the non-disjunction phenomenon can be obtained from data available in B chromosomes. A detailed cytological study of this phenomenon at the first pollen grain mitosis has been made in *Secale cereale* (MÜNTZING, 1946, and at the corresponding stage on the female side, HÄKANSSON, 1948), *Anthoxanthum aristatum* (ÖSTERGRENN, 1947) and *Festuca pratensis* (BOSEMARK, 1950 and unpublished). At this stage the two sister chromatids of each B chromosome pass as a rule united to the anaphase group that will become later the generative nucleus. The same phenomenon was also reported by DARLINGTON and THOMAS (1941) in *Sorghum*, but they did not make a very detailed cytological analysis of this process.

An analysis of the results obtained by the cited Swedish authors brings out the following significant points. 1. In the B chromosome types of *Secale cereale*, *Anthoxanthum aristatum* and *Festuca pratensis*, there are two regions keeping the sister chromatids together, one situated in each arm. 2. In each B chromosome type of these three species these two regions are *situated at equal distances from the kinetochore*. 3. These distances are of approximately the same magnitude in the three species. Such regions were not found to be situated just close to the kinetochore or far apart from it. When the arm is small they are situated at the end (short arm of standard fragment in *Secale* and both arms in *Festuca*) and when it is long they are distanced from the kinetochore about $\frac{1}{3}$ of the total arm length (long arm of standard fragment of *Secale* and both arms in *Anthoxanthum*); consequently they are distanced from the ends about $\frac{2}{3}$ of the total arm length in these long arms.

The fact that this phenomenon exhibits such features and of such a similar nature in three species belonging to three quite distinct genera of the *Gramineae* strongly suggests that the manifestation of such a property at these regions of the arms is under the influence of both the kinetochore and the ends. Supporting experimental evidence was furnished by the following results. In maize, where the B chromosome types undergo non-disjunction at the second pollen mitosis, it was found by ROMAN (1947) in six induced interchanges between A and B chromosomes, that it was the interchange chromosome bearing the kinetochore of the B chromosome that in each case exhibited non-disjunction. These observations clearly show that in maize the kinetochore is involved directly or indirectly in the non-disjunction process. On the other hand, in rye, a pachytene analysis of a deficient fragment derived from the

B chromosome type, called the standard fragment, demonstrated that although the regions keeping the sister chromatids together are present in the deficiency fragment, the absence of the distal region of the standard fragment's long arm is sufficient to inhibit the manifestation of the non-disjunction in these regions (MÜNTZING and LIMA-DE-FARIA, 1952). The distal heterochromatic segment of the B chromosome in maize, is also required for the manifestation of non-disjunction in the B chromosome. The evidence was obtained in strains in which the distal heterochromatic segment was removed by translocation to A chromosomes (ROMAN, personal communication). Thus, the manifestation of non-disjunction by certain regions of the chromosome bears a definite relation to the position and activity of both the kinetochores and the distal regions.

Some indication of a regulating influence by the kinetochore in determining the position of „pseudochiasmata“ has been found in *Scilla campanulata* by REES (1953) after X-raying root tips. In this case, a possible action of the ends should not be excluded. REES found that the chromosomes exhibit „pseudochiasmata“ less often in the short arms than would be expected on a direct length/error basis.

Of all the genetic evidence available the one that fits best into the field phenomenon is the existence of position effects. Position effects have long been known (STURTEVANT, 1925) and an increasing number of similar cases have since been recorded. The number and nature of the position effects led GOLDSCHMIDT (1946) to a careful analysis of their mode of origin and properties, and subsequently to deny the existence of the corpuscular gene. While not prepared to agree with GOLDSCHMIDT's ideas on the nature of the gene I would like to emphasize the value of his work in calling attention to the possible behaviour of the chromosome as a unit. The evidence available on the chromosome field only demands that the chromosome is a *functional* unit, and not a *genetic* unit in GOLDSCHMIDT's meaning, where *each chromosome particle is a part of the field, interacts with it and is under its control, but where it also keeps its entity*.

Of special significance in this connection is the fact that all the cases classified as position effects by GOLDSCHMIDT (1946) in his extensive treatment of the subject, pertain to types of interactions between genes due to rearrangements in the chromosomes which are only recognized at the level of the *organism phenotype*. However, the chromosome gradients are part of the *chromosome phenotype* as well as the chromosome field. The distinction between these two levels of gene expression is a fundamental one. It is obvious that genes which express their properties at the *chromosome region where they are situated or within the chromosome where they are found* cannot be easily analysed by the classic

Mendelian methods and for this reason have not received so much attention from the genetic point of view. In this category may be included the genes responsible for the properties manifested by the chromosome and for most of its appearance. In the „genotypic control“ of the chromosomes, as understood by DARLINGTON (1937), the chromosome phenotype is changed through the action of the genotype as a whole. Here, special attention is called to the genes situated in the chromosomes which express their properties at the region where they are situated. This should not be taken to mean that genes that express themselves at the chromosome level should not at the same time take part in the building up of the organism phenotype: most probably they do.

There are, also, some position effects which can be recognized by their effect being manifested at the chromosome level, and which have not in most cases been described as such, apparently because this difference between the two levels of gene expression has not been fully realised. Position effects manifested at the level of the chromosome phenotype can be considered to be the following. In *Drosophila* SCHULTZ (1941) and KAUFMANN (1948) found that in different types of rearrangements, the nucleic acid content of a disc and the appearance of its chromomeres will depend not only on the general environment provided within the nucleus but also on its position within the chromosome. SCHULTZ and CASPERSSON (CASPERSSON, 1950) worked with a stock of *Drosophila* where in the X-chromosome pair one chromosome partner was normal while the other was involved in a translocation with the fourth chromosome such that the later was broken in a heterochromatic region. They found an increase in the nucleic acid content of several bands (situated in the euchromatin), which were brought next to the heterochromatin in the rearrangement chromosome, as compared to the amount found in the same bands of the normal chromosome. LEWIS (1950), contrarily to the opinion of the cited authors, finds no definite evidence to consider these cases examples of position effects at the level of the organism phenotype. They should, however, be considered examples of position effects at the level of the chromosome phenotype. Experimental evidence of the interaction between the various chromosome regions manifested at the level of the chromosome phenotype is also furnished by the following data. RHOADES (unpublished; cf. RHOADES and KERR, 1949) has demonstrated that the formation of subsidiary spindle fibres from the terminal part of a chromosome arm is controlled by the kinetochore, situated far from this chromosome end. In rye, as cited above, the presence of the distal region of the long arm of the standard fragment was found to be necessary for the manifestation of the phenomenon of non-disjunction exhibited normally

by two regions, one localized in the proximal part of the same arm and the other in the short arm (MÜNTZING and LIMA-DE-FARIA, 1952).

Summing up, the data here analysed furnish the following evidence:

1. Kinetochores are not only regions necessary for the normal movement of chromosomes on the spindle but they also take part in other fundamental chromosome processes, viz. a) The formation of chiasmata as well as of "pseudochiasmata" bears a definite relation to the position of the kinetochore. b) The kinetochore is directly or indirectly involved in the non-disjunction process of the B chromosomes of maize. c) It also controls the formation of subsidiary spindle fibres from the chromosome ends. These results are in agreement with the fact that the formation of the gradients bears a definite relation to the position of the kinetochores.

2. Natural chromosome ends (telomeres) are regions also necessary for the normal functioning of chromosomes. Chromosomes lacking them do not survive long. The behaviour of natural chromosome ends is unipolar, and they resemble kinetochores in their morphological features. The removal of the distal region of the long arm of the "standard fragment" results in the suppression of the non-disjunction process. These results are in agreement with the fact that the shape of the gradients bears a definite relation to the position of the chromosome ends.

3. In addition to natural ends also other regions of the chromosome arms apparently interfere with the shape of the gradients. In agreement with such an observation is the modification of the appearance of the bands in salivary gland chromosomes, resulting from various types of rearrangements.

4. The same fundamental type of chromosome pattern is found in *Agapanthus umbellatus* at both prophases of the first and second divisions of meiosis and at prophase of mitosis irrespective of the variation in chromosome length from stage to stage. PAVAN and BREUER (1952) and BEERMANN (1952) also found in the polytene chromosomes of *Rhynchosciara angelae* and *Chironomus tentans* respectively that the same fundamental type of chromosome pattern is maintained in the different tissues irrespective of the variation in chromosome length from tissue to tissue (*Rhynchosciara*) and of the variation in thickness (*Chironomus*).

5. The integration of the genetic and cytological data now provides us with a coherent picture of the chromosome field, with both cytological and genetic significance. It furnishes an initial picture of the mechanism responsible for the behaviour of the chromosome as a functional unit, a mechanism in which a series of activity centres with different potentialities, kinetochores, natural ends, knob formations, particular seriations, etc., seem to interact in the determination of the chromosome

pattern and the chromosome behaviour. It should be emphasized that such a picture is not incompatible with the corpuscular theory of the gene.

Finally, attention should be called to the evolutionary implications of the chromosome field. As pointed out by DARLINGTON and MATHER (1949) selection discriminates primarily between phenotypes, and hence between genotypes only to the extent that they give different phenotypes; the phenotype is, as it were, the organ by which the genotype is selected. Thus, at present, selection is understood as dealing mostly with the organism phenotype. The evidence strongly supporting the assumption of the chromosome behaving as a functional unit, has as an immediate implication the assumption that selection should take place not only at the organism level but also at the chromosome level. Not all kinds of rearrangements or mutations would fit equally well into the system of order that is the chromosome field; and in this way new rearrangements or new mutations would be favoured or not by means of the chromosomes carrying them being preserved or eliminated in subsequent generations, according to whether their location, genetic behaviour, size (in the case of rearrangements), and number, agrees with or disturbs the established relations within the chromosome field. Thus, before any new rearrangement or mutation is tried at the organism level it appears that it suffers a previous trial at the chromosome level. This would mean that the genotype of an organism evolves under defined conditions. DOBZHANSKY and EPLING (1944) found that the third chromosome of *Drosophila pseudoobscura* and *Drosophila persimilis* exhibits a much larger number of natural gene arrangements than the other chromosomes of these species and, moreover, that breaks observed in these gene arrangements were much more common in the two short sections 76 and 77 than in the long region comprising sections 63 through 68, which constitutes more than a third of the chromosome. HINTON, IVES and EVANS (1952) found also in *Drosophila melanogaster* that the breaks involved in chromosomal rearrangements, apparently caused by a high mutation rate gene, were much more frequent in region twenty than in other sections of the X chromosome. The evidence on this point is scanty and incomplete, but it points towards a non-random distribution of gene rearrangements within the chromosome.

Summary.

1. The structure of the fifteen chromosomes of *Agapanthus umbellatus* ($2n = 30$) was studied in great detail at middle prophase II of meiosis. A map of each chromosome was made based on an analysis of the size, number and distribution of the chromomeres and of the stainability and thickness of the fibrillae. A structural study of the chromosomes of this species was also carried out at pachytene.

2. At these stages the chromomeres in each chromosome of the complement are large on both sides of the kinetochore and become gradually smaller towards the ends. The term gradient refers to the gradual decrease in chromomere size, stainability and thickness of the fibrillae. At middle prophase II two gradients are present: one in chromomere size, another in stainability of the fibrillae. At pachytene besides these two, there may also be observed a gradient in fibrilla thickness. At prophase of mitosis there is also a gradient in the stainability of the fibrillae.

3. The thickness of the fibrilla pairs, their stainability and the chromomere size vary independently of each other. However, the gradients that they originate follow each other closely both at middle prophase II and at pachytene.

4. These gradients vary from arm to arm in a definite manner. There is not only a slower rate of decrease in chromomere size, stainability and thickness of the fibrillae in the longer arms but this decrease is adapted to the distance at which the ends are found from the kinetochores. When this distance increases the deeply stained regions are those that increase less in length. The weakly stained regions increase slightly more than the deeply stained ones but the regions with average stainability increase nearly the double of the two other types of regions.

5. The chromomere number of the same chromosomes varies within *Agapanthus umbellatus* from stage to stage. For a given stage the average distance between the centres of two consecutive chromomeres is of an almost constant magnitude in every arm and in every chromosome of the complement. In four different stages of *Agapanthus umbellatus*, pachytene, middle and late prophase II of meiosis, and prophase of mitosis, the mean of the ratio between arm or chromosome length and chromomere number is of a similar magnitude.

6. Similar gradients to those described in *Agapanthus* are found in *Secale cereale*, *Zea mays*, *Kniphofia aloides*, *Fritillaria* (several species), *Solanum lycopersicum*, *Gazania rigens*, *Passiflora* sp., etc. This phenomenon is thus present in five quite different families representing both Monocotyledons and Dicotyledons.

7. The expression chromosome field refers to the fact that the variation observed within the gradients takes place in such a way that the properties exhibited by certain entities in one part of the chromosome bear a definite relation to the properties exhibited by other entities in other parts of the chromosome. a) The origin of the gradients is related to a definite region of the chromosome—the kinetochore. b) The rate of decrease in the properties of the constituents of the gradients bears a definite relation to the position of the ends. c) Not only the ends but also the knob formations and their adjacent regions appear to have an effect on the shape of the gradients. d) Particular seriations

located at regular intervals in the chromosome body represent regions where the gradients are locally disturbed. e) A fairly constant feature of the chromomeres is the magnitude of the distance at which they are spaced along the chromosome. Moreover, the same fundamental type of chromosome pattern is maintained irrespective of the variation in arm length from chromosome to chromosome and within the same chromosome. The same fundamental type of chromosome pattern is also maintained when the chromosomes vary in their length from stage to stage (pachytene, middle prophase II, prophase of mitosis).

8. Many cytological and genetic data can be better understood when seen in connection with the field phenomenon, such as position effects, chiasmata distribution, the "telomere" concept, the property of non-disjunction exhibited by certain types of B chromosomes, the distribution of "pseudochiasmata", etc.

9. Position effects have been described, in most cases, by their recognizable effect on the organism phenotype. Position effects having a recognizable effect on the chromosome phenotype are also known in *Drosophila*. Experimental evidence of the interaction between the various chromosome regions manifested at the level of the chromosome phenotype is also available from studies in maize and rye.

10. The information here gathered furnishes an initial picture of the mechanism responsible for the behaviour of the chromosome as a functional unit. Such a mechanism is not incompatible with the corpuscular theory of the gene.

Literature cited.

BARTON, D. W.: Pachytene morphology of the tomato chromosome complements. Amer. J. Bot. 37, 639-643 (1950). — BEERMANN, W.: Chromomerkonstanz und spezifische Modifikationen der Chromosomenstruktur in der Entwicklung und Organdifferenzierung von *Chironomus tentans*. Chromosoma 5, 139-198 (1952). — BELLING, J.: The ultimate chromomeres of *Lilium* and *Aloë* with regard to the numbers of genes. Univ. Calif. Publ. Bot. 14, 307-318 (1928a). — Contraction of chromosomes during maturation divisions in *Lilium* and other plants. Univ. Calif. Publ. Bot. 14, 335-343 (1928b). — BONNIER, G., and O. TREDIN: Biologisk variationsanalys. Stockholm 1940. 325 S. — BOSEMARK, N. O.: Accessory chromosomes in *Festuca pratensis* Huds. Hereditas 36, 366-368 (1950). — BROWN, S. W.: The structure and meiotic behaviour of the differentiated chromosomes of tomato. Genetics 34, 437-461 (1949). — CASPERSSON, T. O.: Cell Growth and Cell Function. A Cytochemical Study. New York 1950. 185 S. — DARLINGTON, C. D.: Meiosis in *Agapanthus* and *Kniphofia*. Cytologia 4, 229-240 (1933). — The internal mechanics of the chromosomes. II — Prophase pairing at meiosis in *Fritillaria*. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B 118, 59-73 (1935). — Recent Advances in Cytology. London 1937. 671 S. — DARLINGTON, C. D., and K. MATHER: The Elements of Genetics. London, 1949. 446 S. — DARLINGTON, C. D., and P. T. THOMAS: Morbid mitosis and the activity of inert chromosomes in *Sorghum*. Proc. Royal Soc. Lond., Ser. B 130, 127-150 (1941). — DOBANSKY, T., and C. EPLING: Contributions to the Genetics, Taxonomy, and Ecology

of *Drosophila pseudoobscura* and its relatives. Carnegie Instn. Publ. 554, 1—183 (1944). — GOLDSCHMIDT, R. B.: Position effect and the theory of the corpuscular gene. Experientia 2 (6), 1—40 (1946). — The theory of the gene. Chromosomes and genes. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 16, 1—11 (1951). — GOTTSCHALK, W.: Untersuchungen am Pachytan normaler und röntgenbestrahlter Pollenmutterzellen von *Solanum lycopersicum*. Chromosoma 4, 298—341 (1951). — HÄKANSSON, A.: Behaviour of accessory rye chromosomes in the embryo-sac. Hereditas 34, 35—59 (1948). — HETZ, E.: Die Herkunft der Chromocentren. Dritter Beitrag zur Kenntnis der Beziehung zwischen Kernstruktur und qualitativer Verschiedenheit der Chromosomen in ihrer Längsrichtung. Planta 18, 571—636 (1932). — HINROX, T., P. T. IVES and A. T. EVANS: Changing the gene order and number in natural populations. Evolution 6, 19—28 (1952). — KAUFMANN, B. P.: Chromosome structure in relation to the chromosome cycle. II. Bot. Review 14, 57—126 (1948). — KOSHIKOV, R. V., and H. J. MULLER: Validation of the genetic evidence for branched chromonemes in the case of the pale translocation in *Drosophila*. J. Hered. 26, 305—317 (1935). — LEWIS, E. B.: The phenomenon of position effect. Adv. Genet. 3, 73—115 (1950). — LIMA-DE-FARIA, A.: B chromosomes of rye at pachytene. Portugal. Acta Biol. A 2, 167—174 (1948). — The chromomere size gradient of the chromosomes of rye. Hereditas 38, 246—248 (1952a). — Chromomere analysis of the chromosome complement of rye. Chromosoma 5, 1—68 (1952b). — The regions of special cycle of division of *Agapanthus* chromosomes. Chromosoma 6, 33—44 (1953). — LONGLEY, A. E.: Knob positions on corn chromosomes. J. Agricul. Res. 59, 475—490 (1939). — Knob positions on teosinte chromosomes. J. Agricul. Res. 62, 401—413 (1941). — MATHER, K.: The determination of position in crossing-over. I. *Drosophila melanogaster*. J. Genet. 33, 207—235 (1936). — Crossing-over. Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc. 13, 252—292 (1938). — The determination of position in crossing-over. III. The evidence of metaphase chiasmata. J. Genet. 39, 205—223 (1940). — MULLER, H. J.: Bearings of the „Drosophila“ work on systematics. In the New Systematics, edited by J. Huxley, S. 185—268. Oxford 1940. — MÜNTZING, A.: Cytological studies of extra fragment chromosomes in rye. III. The mechanism of non-disjunction at the pollen mitosis. Hereditas 32, 97—119 (1946). — MÜNTZING, A., and A. LIMA-DE-FARIA: Pachytene analysis of deficient accessory chromosome in rye. Hereditas 38, 1—10 (1952). — NEEDHAM, J.: Biochemistry and Morphogenesis. Cambridge 1942. 787 S. — ÖSTERGREN, G.: Heterochromatic B-chromosomes in *Anthoxanthum*. Hereditas 33, 261—296 (1947). — PAVAN, C., and M. E. BREUER: Polytene chromosomes in different tissues of *Rhynchosciara*. J. Hered. 43, 150—157 (1952). — REES, H.: Centromere control of chromosome splitting and breakage. Heredity, Suppl. 6, 235—245 (1953). — RHOADES, M. M.: Meiosis in maize. J. Hered. 41, 58—67 (1950). — RHOADES, M. M., and W. E. KERR: A note on centromere organization. Proc. Nat. Acad. Sci. 35, 129—132 (1949). — ROMAN, H.: Mitotic nondisjunction in the case of interchanges involving the B-type chromosome in maize. Genetics 32, 391—409 (1947). — SCHULTZ, J.: The function of heterochromatin. Proc. VII. Internat. Genet. Congr. Edinburgh 1939, S. 257—262. 1941. — STURTEVANT, A. H.: The effects of unequal crossing over at the bar locus in *Drosophila*. Genetics 10, 117—147 (1925). — TJIO, J. H., and A. LEVAN: The use of oxiquinoline in chromosome analysis. An. Est. Exper. Aula Dei 2, 21—64 (1950). — UBISCH, L. v.: Das Zuordnungsproblem. Ges. Forderg westf. Landesuniv. Münster 27, 1—24 (1951). — WARTERS, M., and A. B. GRIFFEN: The telomeres of *Drosophila*. J. Hered. 41, 182—190 (1950). — WEISS, P.: Principles of Development. A Text in Experimental Embryology. New York 1939. 601 S.

Dr. A. LIMA-DE-FARIA, Institute of Genetics, University, Lund (Schweden).

Aus dem Institut für Allgemeine Biologie der Universität Wien.

DIE STRAHLENINDUZIERTE TRENNUNG
DES ATTACHED-X-VERBANDES
BEI DROSOPHILA MELANOGASTER.

Von

GERTIE KUTSCHERA.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Januar 1954.)

F. MAINX (1940) hat eine Dosisproportionalitätskurve für die strahleninduzierte Trennung des attached-X-Verbandes bei *Drosophila melanogaster* angegeben, die keine eindeutige Entscheidung der Frage gestattete, ob dieser Vorgang als ein Eintreffer- oder ein Zweittrefferereignis aufzufassen sei. MAINX diskutiert die Alternative, ob diese Trennung durch einen Einzelbruch zwischen den beiden X-Chromosomen oder durch einen Translokationsvorgang zwischen dem Verband und dem Y-Chromosom zustande kommt, wofür manche andere Befunde sprechen (KAUFMANN 1933, NEUHAUS 1936). Er vermutet am Schluß seiner Untersuchung, daß sich der Ertrag an Trennungen des Verbandes aus beiderlei Vorgängen zusammensetzt. Durch eine sorgfältigere Ausarbeitung der Dosisproportionalitätskurve soll hier eine Klärung dieser Frage versucht werden.

Zu den Versuchen wurde ein g/β -Stamm verwendet, der unter Standardbedingungen eine sehr konstante spontane Rate des Detachement von $0,16 \pm 0,018\%$ während der ersten 12 Tage der Lebenszeit der sofort nach dem Schlüpfen begatteten Weibchen zeigte. Die Bestrahlung der Weibchen wurde in flachen Bestrahlungskammern mit einem Siemens-Monopan bei einer Stromstärke von 4 mA und einer Effektivspannung von 60 kV unter Verwendung eines Tubus von 1,5 cm Durchmesser durchgeführt, wobei eine genaue Dosierung größerer Strahlungsdosen in kurzen Applikationszeiten möglich war. Für die Dosisproportionalitätsuntersuchungen wurden Weibchen im Alter von 1—6 Tagen im unbegatteten Zustand bestrahlt. Sofort nach der Bestrahlung wurden im Überschuß Männchen zugegeben und die Nachkommenschaft bei 25° unter Standardbedingungen aufgezogen. Die legenden Weibchen wurden jeden 2. Tag in ein neues Kulturglas übertragen, um Übervölkerung zu vermeiden. Verwertet wurden nur die Gelege der ersten 12 Tage nach der Bestrahlung. Die bei dem Stamm nur in geringer Zahl auftretenden Überweibchen sind in den Zählungen nicht berücksichtigt. Zur besseren Sicherung des Kurvenverlaufs wurde der Bereich zwischen 500 und 4500 r in Abständen von je 500 r geprüft.

Ergebnisse.

Die Versuchszahlen waren die folgenden (s. Tabelle 1):

Tabelle 1.

Dosis in r	♀	♂	Ausnahmen		Gesamt- zahl	Zahl der Ausnah- men	Prozent der induzier- ten Trennungen $\pm m$
			♀	♂			
500	1430	1274	7	3	2714	10	0,13 \pm 0,07
1000	1294	1338	8	6	2646	14	0,37 \pm 0,12
1500	626	658	9	4	1297	13	0,84 \pm 0,25
2000	875	896	15	7	1793	22	1,06 \pm 0,23
2500	544	508	11	8	1078	19	1,50 \pm 0,37
3000	932	968	24	19	1943	43	2,07 \pm 0,43
3500	812	892	31	16	1751	47	2,52 \pm 0,37
4000	672	937	35	24	1662	59	3,33 \pm 0,44
4500	727	701	58	40	1526	98	6,26 \pm 0,62
Summe	7912	8172	199	127	16410	325	

Bei den Ausnahmetieren fällt eine Asymmetrie zwischen den Weibchen und Männchen auf, die außerhalb der Fehlergrenzen liegt. Das Defizit an Männchen ist vielleicht auf die Auswirkung der Letal- und

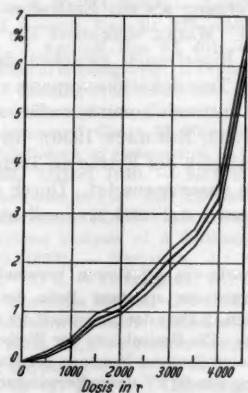


Abb. 1. Proportionalitätskurve der strahleninduzierten Trennung des attached-X-Verbandes. Die mittleren Fehler der experimentellen Werte als Begleitkurven dargestellt.

Subletalfaktoren zurückzuführen, die in den bestrahlten X-Chromosomen entstanden sind. Es wurde darauf verzichtet, die Asymmetrie durch eine Aufrundung der Zahlen zu korrigieren. Auch im Falle der Durchführung dieser Korrektur wäre der später zu schildernde Kurvenverlauf kein wesentlich anderer. Die in der letzten Kolonne der obigen Tabelle angegebenen Prozentzahlen sind durch Abzug der Spontanrate des Detachement korrigiert. Diese Werte ergeben die folgende Dosis-

proportionalitätskurve, wobei der Bereich des einfachen mittleren Fehlers durch unterbrochene Linien abgegrenzt ist (Abb. 1).

Die Kurve zeigt deutlich einen logarithmischen Verlauf. Zumindest läßt sich eine logarithmische Kurve in den Bereich des einfachen Fehlers legen, hingegen keine Kurve mit linearem Verlauf. Um die Frage der Übereinstimmung der experimentellen Kurve mit einer Zweitrefferkurve zu prüfen, wurde nach der Formel $y = 1 - e^{-kD}$ ($1 + kD$) die Halbwertsdosis $D_{\frac{1}{2}} = 20600$ r und daraus unter Zugrundelegung der experimentellen Daten $k = 1,678$ berechnet. Aus diesen Werten ergeben sich für die theoretische Zweitrefferkurve die folgenden Kurvenpunkte:

Tabelle 2.

$D/D_{\frac{1}{2}}$	0,05	0,10	0,20	0,30	0,40	0,70
$y \%$	0,3	1,2	4,5	9,1	14,6	32,8

Um auch den Vergleich mit einer Dreitrefferkurve ziehen zu können, wurden nach der Formel $y = 1 - e^{-kD} \left(1 + kD + \frac{(kD)^2}{2}\right)$ für die gleiche Halbwertszeit die folgenden Punkte einer Kurve berechnet, die durch den gleichen Punkt geht ($D/D_{\frac{1}{2}} = 1$, $y = 50\%$):

Tabelle 3.

$D/D_{\frac{1}{2}}$	0,05	0,10	0,20	0,30	0,40	0,70
$y \%$	0,03	0,21	1,51	4,77	10,01	28,92

Die zugehörige Eintrefferkurve mit der gleichen Halbwertszeit ergibt sich aus der Formel $y = 1 - e^{-kD}$.

In Abb. 2 sind diese drei theoretischen Kurven wiedergegeben und die experimentell erhaltenen Werte als Punkte eingetragen. Es zeigt sich, daß die experimentellen Daten eine weitgehende Annäherung an den Verlauf der Zweitrefferkurve zeigen. Es kann somit angenommen werden, daß die Trennung des attached-X-Verbandes durch Röntgenstrahlen stets oder zumindest in der überwiegenden Anzahl der Fälle ein Zweitreffereignis darstellt. Sie ist wohl stets als die Folge eines Translokationsvorganges zwischen dem Verband und dem Y-Chromosom aufzufassen.

Bei der Durchführung der Versuche fiel es auf, daß die gegen das Ende der 12tägigen Versuchszeit besetzten Gläser stets eine geringere Ausbeute an Ausnahmen lieferten, als die im Anfang der Versuchszeit belegten. Der Abstand vom Zeitpunkt der Bestrahlung oder das Altern der Weibchen schien einen Einfluß auf den Trennungsvorgang des Verbandes zu haben.

Um diese Fragen zu klären, wurden die folgenden Versuchsreihen durchgeführt. In allen Versuchen wurden die Weibchen mit der gleichen Dosis von 3600 r

bestrahlt. Nach dem Zusetzen der Männchen wurden die Tiere bis zum 12. Tag alle 24 Std in ein neues Kulturglas übertragen und der Ertrag der einzelnen Gläser wurde gesondert registriert. Eine längere Fortführung der Versuche ist wegen der dann stärker absinkenden Fruchtbarkeit nicht durchführbar.

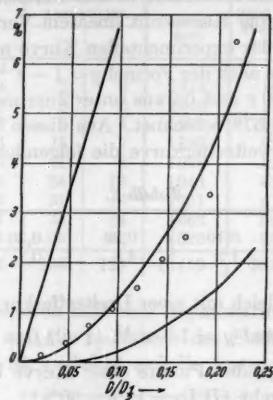


Abb. 2. Theoretische Eintreffer-, Zweittreffer- und Dritttrefferkurve. Die experimentellen Werte als Punkte eingetragen.

Versuch I. Weibchen im Alter von 1—24 Std nach dem Schlüpfen wurden bestrahlt und sofort nachher mit Männchen vereinigt. Die Verteilung der Ausnahmetiere auf die nun folgenden 12 Tage zeigt die Tabelle 4.

Tabelle 4.

Tag	Nicht-ausnahmen	Ausnahmen		Gesamtzahl der Ausnahmen
		♀	♂	
1	228	7	5	12
2	343	8	4	12
3	263	3	6	9
4	191	4	3	7
5	202	3	5	8
6	241	4	4	8
7	257	3	1	4
8	250	5	1	6
9	243	3	1	4
10	231	—	2	2
11	241	—	—	—
12	229	—	1	1
Summe	2919	40	33	73

Gesamtertrag an Ausnahmen: $2,48 \pm 0,28\%$.

Die relative Anzahl der Ausnahmen nimmt sichtlich im Laufe der Versuchsdauer ab. Um die Unterschiede statistisch besser sichern zu

können, wurden in diesem und den folgenden Versuchen Abschnitte von je 3 Tagen zusammengefaßt. Der Vergleich der so gewonnenen 4 Zeitabschnitte innerhalb der 12tägigen Versuchszeit ergibt ein eindeutiges Absinken des Ertrages mit der Zeit. Die Differenzen D zwischen den unmittelbar aufeinanderfolgenden Zeitabschnitten sind zwar nicht immer statistisch gesichert, die Differenzen zwischen dem 1. und 3., bzw. 2. und 4. Zeitabschnitt, besonders aber die zwischen dem 1. und 4. Zeitabschnitt sind fast stets sicher beweisend. Sie sind in dieser und den folgenden Tabellen rechts von der Tabelle eingetragen. Das gleichsinnige Absinken der Erträge mit der Zeit in fast allen Versuchen beweist überdies eindeutig die Realität dieser Erscheinung.

Tabelle 5.

Abschnitt	Prozent der Ausnahmen	m	$D \pm m_D$	
1.— 3. Tag	3,94	$\pm 0,67$	$0,32 \pm 1,00$	$D1/3 = 2,06 \pm 0,83$
4.— 6. Tag	3,62	$\pm 0,74$	$1,74 \pm 0,89$	$D2/4 = 3,19 \pm 0,78$
7.— 9. Tag	1,88	$\pm 0,49$	$1,45 \pm 0,55$	$D1/4 = 3,51 \pm 0,72$
10.—12. Tag	0,43	$\pm 0,25$		

Versuch II und III. In diesen Versuchen war die Frage gestellt, inwieweit das Alter der Weibchen im Zeitpunkt der Bestrahlung auf den Ertrag der ersten 12 Tage nach der Bestrahlung einen Einfluß hat. Der Kürze wegen sind nur die zusammengefaßten Abschnitte zu je 3 Tagen wiedergegeben.

Versuch II. Weibchen im Alter von 5 Tagen (± 12 Std) nach dem Schlüpfen wurden bestrahlt und sofort mit Männchen vereinigt. $N = 2,264$, Zahl der Ausnahmen 39.

Tabelle 6.

Abschnitt	Prozent der Ausnahmen	m	$D \pm m_D$	
1.— 3. Tag	2,24	$\pm 0,46$	$0,15 \pm 0,79$	$D1/3 = 2,02 \pm 0,52$
4.— 6. Tag	2,09	$\pm 0,65$	$1,87 \pm 0,69$	$D2/4 = 2,09 \pm 0,65$
7.— 9. Tag	0,22	$\pm 0,23$	$0,22 \pm 0,23$	$D1/4 = 2,24 \pm 0,46$
10.—12. Tag	0,00	—		

Gesamtertrag an Ausnahmen: $1,66 \pm 0,26\%$.

Versuch III. Weibchen im Alter von 10 Tagen (± 12 Std) nach dem Schlüpfen wurden bestrahlt und sofort mit Männchen vereinigt. $N = 2,316$. Zahl der Ausnahmen 28.

Tabelle 7.

Abschnitt	Prozent der Ausnahmen	<i>m</i>	$D \pm m_D$	
1.— 3. Tag	2,38	$\pm 0,55$	$1,36 \pm 0,71$	$D1/3 = 1,65 \pm 0,64$
4.— 6. Tag	1,02	$\pm 0,45$	$0,29 \pm 0,55$	$D2/4 = 1,02 \pm 0,45$
7.— 9. Tag	0,73	$\pm 0,32$	$0,73 \pm 0,32$	$D1/4 = 2,38 \pm 0,55$
10.—12. Tag	0,00	—		

Gesamtertrag an Ausnahmen: $1,20 \pm 0,21\%$.

In beiden Versuchen ist die Abnahme des Ertrages an Ausnahmen vom 1. bis zum 12. Tag nach der Bestrahlung deutlich zu beobachten, ebenso wie im Versuch I. Außerdem besteht aber im Gesamtertrag an Trennungen des attached-X-Verbandes eine statistisch gesicherte Differenz gegenüber dem Versuch I im Sinne der Verminderung des Ertrages. Bei Bestrahlung von 5 Tage alten Weibchen ist die Differenz gegenüber dem Versuch mit frisch geschlüpften Weibchen $0,8 \pm 0,07\%$, bei Bestrahlung von 10 Tage alten Weibchen sogar $1,28 \pm 0,06\%$.

Versuche IV—VI. In diesen Versuchen wurden die Weibchen im Alter von 1—24 Std nach dem Schlüpfen bestrahlten und dann altern gelassen, bevor sie mit den Männchen vereinigt wurden. Auch hier sind nur die zusammengefaßten Zeitabschnitte der stets 12tägigen Versuchsdauer wiedergegeben.

Versuch IV. Nach der Bestrahlung 5 Tage Wartezeit, dann Zugabe der Männchen. $N = 1,817$, Zahl der Ausnahmen 59.

Tabelle 8.

Abschnitt	Prozent der Ausnahmen	<i>m</i>
1.— 3. Tag	4,65	$\pm 0,72$
4.— 6. Tag	1,41	$\pm 0,63$
7.— 9. Tag	3,20	$\pm 1,04$
10.—12. Tag	1,98	$\pm 0,87$

Gesamtertrag an Ausnahmen: $3,25 \pm 0,17\%$.

Versuch V. Nach der Bestrahlung 10 Tage Wartezeit, dann Zugabe der Männchen. $N = 1,622$, Zahl der Ausnahmen 65.

Tabelle 9.

Abschnitt	Prozent der Ausnahmen	<i>m</i>
1.— 3. Tag	5,19	$\pm 0,87$
4.— 6. Tag	2,60	$\pm 0,77$
7.— 9. Tag	4,34	$\pm 1,34$
10.—12. Tag	6,49	$\pm 1,98$

Gesamtertrag an Ausnahmen: $4,00 \pm 0,22\%$.

Versuch VI. Nach der Bestrahlung 20 Tage Wartezeit, dann Zugabe der Männchen. $N = 1,496$, Zahl der Ausnahmen 42.

Tabelle 10.

Abschnitt	Prozent der Aus- nahmen	m	$D \pm m_D$	
1.— 3. Tag	3,69	$\pm 0,71$	$1,58 \pm 0,97$	$D1/3 = 3,22 \pm 0,85$
4.— 6. Tag	2,11	$\pm 0,66$	$1,64 \pm 0,81$	$D2/4 = 2,11 \pm 0,66$
7.— 9. Tag	0,47	$\pm 0,47$	$0,47 \pm 0,47$	$D1/4 = 3,69 \pm 0,71$
10.—12. Tag	0,00	—		

Gesamtertrag an Ausnahmen: $2,88 \pm 0,13\%$.

In den Versuchen IV und V ist die Abnahme des Ertrages im Verlauf der 12tägigen Versuchsdauer noch eindeutig ausgeprägt, im Versuch VI dagegen wieder deutlich. Der Gesamtertrag an Trennungen des attached-X-Verbandes zeigt in den Versuchen IV—VI gegenüber dem Versuch I statistisch gesicherte Unterschiede und zwar durchwegs im Sinne einer Erhöhung der Rate. Die Erhöhung der Rate gegenüber dem Versuch I beträgt nach 5 Tage dauernder Alterung der bestrahlten Weibchen $0,77 \pm 0,11\%$, nach 10tägiger Alterung $1,52 \pm 0,13\%$ und nach 20tägiger Alterung $0,40 \pm 0,04\%$. Die Erhöhung der Rate scheint also während des Alterungsprozesses der Weibchen im bestrahlten Zustand zunächst mäßig, dann stärker und später wieder weniger stark in Erscheinung zu treten.

Diskussion.

Zur Deutung des Absinkens der Trennungsrate des attached-X-Verbandes während des Alterns der jung bestrahlten und sofort begatteten Weibchen lassen sich die folgenden Vorstellungen entwickeln. Zur Zeit der Bestrahlung des bis zu 24 Std alten Weibchens sind alle Stadien von fast ausgereiften Eiern bis zu sich teilenden Oogonien vorhanden. Die in den späteren Lebenstagen des Weibchens abgelegten Eier waren zur Zeit der Bestrahlung im Stadium von jungen Oocytēn oder Oogonien. Die Annahme, daß in den Kernen solcher Stadien weniger Brüche als in reiferen Stadien entstehen, ist unwahrscheinlich. Wahrscheinlicher ist die Annahme, daß in den dichter gebauten Kernen der unreifen Stadien die Aussichten für eine dislozierte Rekombination der Bruchstellen geringer sind als in den aufgelockerten Kernen reifer Oocytēn oder Eier. Die gleiche Hypothese haben FIALA und NEUBERT (1952) vertreten, die mittels der cytologischen Untersuchung der Nachkommenschaft für die strahleninduzierten groben Chromosomendislokationen ebenfalls ein Absinken des Ertrages beim Altern der bestrahlten und befruchteten Weibchen festgestellt haben.

Um die Abweichungen der gesamten Trennungsraten der Versuche II bis VI vom Grundversuch I deuten zu können, müssen die Unterschiede in der Eiproduktion zwischen begatteten und unbegatteten Weibchen berücksichtigt werden. Bei bald nach dem Schlüpfen begatteten Weibchen tritt in rascher Folge eine ununterbrochene Produktion befruchteter Eier ein. Bleiben die Weibchen unbegattet, so wird der Prozeß der Eibildung stark verlangsamt. Es bilden sich zwar auch reife Eier, aber in geringerer Zahl und sie sind durch ihre dünne Membran als unbefruchtete Eier zu erkennen. Mit der Zeit werden solche unbefruchtete Eier auch abgelegt. Beim weiteren Altern unbegatteter Weibchen kommt der Eibildungsprozeß allmählich zum Stillstand, früher als bei gleich alten begatteten Weibchen. In den Versuchen II und III, in denen die Weibchen vor der Bestrahlung und der sofort nachher erfolgenden Begattung bereits 5 bzw. 10 Tage gealtert waren, ist der Gesamtertrag an Detachments wohl in einem höheren Ausmaß durch solche Gameten bestimmt, die zur Zeit der Bestrahlung erst junge Oocyten oder Oogonien waren und die erst in dem nach der späteren Begattung beschleunigt einsetzenden Eireifungsprozeß zu Eiern herangereift sind. Daß bei Bestrahlung solcher Stadien weniger Dislokationen entstehen, wurde schon oben zu erklären versucht.

Schwieriger ist es, die Erhöhung der Gesamttrennungsraten in den Versuchen IV—VI gegenüber dem Grundversuch I zu deuten. Hier wurden die Weibchen gleich nach dem Schlüpfen bestrahlt und erreichten im bestrahlten Zustand das Alter von 5 bzw. 10 oder 20 Tagen, ehe sie begattet wurden. Am höchsten war die Steigerung der Dislokationsrate nach Alterung durch 10 Tage. Man könnte die Vorstellung entwickeln, daß die bestrahlten Gameten in dem mangel einer Begattung verlangsamt ablaufenden Eireifungsprozeß längere Zeit als bei begatteten Weibchen in einem bestimmten Reifungsstadium verharren, das für die dislozierte Rekombination der Bruchenden besonders günstig ist, und daß auf diese Weise die Erhöhung der Dislokationsrate zustande kommt. Daß diese Erhöhung nach 20tägiger Alterung wieder abnimmt, könnte darauf beruhen, daß bei einer so lange dauernden Wartezeit alle zur Zeit der Bestrahlung im Stadium der reifenden Oocyten befindlichen Zellen schon als unbefruchtete Eier abgelegt sind und daher der Ertrag wesentlich von solchen Zellen bestimmt wird, die zur Zeit der Bestrahlung Oogonien waren. Man könnte allerdings auch annehmen, daß die Rekombinationsvorgänge indirekt von physiologischen Prozessen beeinflußt werden, die während der mehr oder weniger langen Wartezeit im bestrahlten und unbegatteten Weibchen ablaufen und nach etwa 10 Tagen das Maximum ihrer Wirkung erreichen. Daß der Unterschied in einer verschieden hohen Bruchfrequenz begründet sei, ist nicht anzunehmen, da ja in den Versuchen IV—VI ebenso wie im Grundversuch I

frisch geschlüpfte Weibchen bestrahlt wurden, die Anfangsbedingungen bei der Bestrahlung also die gleichen sind.

Es sei noch kurz erwähnt, daß auch der Versuch unternommen wurde, durch Bestrahlung jüngerer Stadien der Keimbahn die Trennung des attached-X-Verbandes zu erzielen. Embryonen in der Eihülle und junge Larven erwiesen sich als zu empfindlich gegen höhere Strahlungsdosen, um ein gesichertes Resultat zu ergeben. Nach der Bestrahlung von Larven im letzten Stadium mit 2400 r ergab sich eine Dislokationsrate von $0,57 \pm 0,21\%$, gegenüber der Spontanrate also eine Differenz von $0,41 \pm 0,22\%$. Nach der Bestrahlung von jungen Puppen mit 2400 r ergab sich eine Rate von $1,40 \pm 0,44\%$ mit einer Differenz von $1,24 \pm 0,44\%$ gegenüber der Spontanrate. Es erscheint damit genügend gesichert, daß bereits in den Gonadenanlagen der Larven und Puppen Trennungen des attached-X-Verbandes durch Strahlung ausgelöst werden können.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine genauere Dosisproportionalitätskurve für die strahleninduzierte Trennung des attached-X-Verbandes von *Drosophila melanogaster* vorgelegt. Diese zeigt eine weitgehende Übereinstimmung mit der theoretischen Zweitrefferkurve. Es wird daher angenommen, daß die Trennung des attached-X-Verbandes durch Strahlungen stets oder fast stets durch eine Translokation des attached-X-Verbandes mit dem Y-Chromosom zustande kommt.

2. Während des Alterns der jung bestrahlten und sofort begatteten Weibchen tritt eine allmähliche Senkung des Ertrages an Detachments ein.

3. Wenn ältere Weibchen bestrahlt und sofort begattet werden, ist der Gesamtertrag an Detachments geringer.

4. Wenn junge Weibchen bestrahlt werden, die Begattung aber erst später erfolgt, ist der Ertrag an Detachments erhöht, am stärksten bei einer Alterung der bestrahlten aber noch nicht begatteten Weibchen durch 10 Tage.

5. Es werden theoretische Deutungen für diese Befunde auf Grund der Auffassung des Vorganges als eines Dislokationsvorganges vorgelegt.

6. Durch die Bestrahlung von Larven und Puppen lassen sich auch in jüngeren Stadien der Keimbahn Trennungen des attached-X-Verbandes auslösen.

Für die Anregung zu dieser Arbeit und seine stete Hilfsbereitschaft möchte ich Herrn Prof. F. MAINX herzlich danken, ebenso Herrn Prof. E. ZDANSKY für die Durchführung der Bestrahlungen im Zentralröntgen-Institut der Wiener Universität und den Herren Dr. J. ZAKOVSKY und Dr. R. LEHNER für ihre wertvollen physikalischen Hinweise.

Literatur.

FIALA, Y., u. J. NEUBERT: Die Erzeugung von Chromosomendislokationen durch Röntgenstrahlen in der Keimbahn und in Geschlechtszellen verschiedenen Alters bei *Drosophila hydei* STURT. Chromosoma 4, 577—584 (1952). — KAUFMANN, B. P.: Interchange between X- and Y-chromosomes in attached X-females of *Drosophila melanogaster*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 19, 830—838 (1933). — MAINX, F.: Die Wirkung von Röntgenstrahlen auf die Trennung der attached-X-Chromosomen bei *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre 78, 238—245 (1940). — NEUHAUS, M. J.: Crossing over between the X- and Y-chromosomes in the female of *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre 71, 265—275 (1936).

Dr. GERTIE KUTSCHERA, Institut für Allgemeine Biologie, Wien IX,
Schwarzspanierstr. 17.

